



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

공학석사 학위논문

간헐적 X선 조사 시
선량 전달 패턴의
세포 생존율에 대한 영향 연구

**A Study on the Effect of Dose Delivery Patterns
on Cell Survival in Intermittent X-ray Exposures**

2017년 2월

서울대학교 대학원

에너지시스템공학부

김 혜 진

간헐적 X선 조사 시
선량 전달 패턴의
세포 생존율에 대한 영향 연구

지도교수 김 은 희

이 논문을 공학석사 학위논문으로 제출함
2017년 2월

서울대학교 대학원
에너지시스템공학부
김 혜 진

김혜진의 공학석사 학위논문을 인준함
2017년 2월

위 원 장 조형규 (인)

부위원장 김은희 (인)

위 원 황일순 (인)

초록

방사선을 이용한 수술(radiosurgery) 및 치료(radiotherapy)는 정상세포의 피폭을 최소화하면서 종양세포를 효과적으로 사멸시키는 것을 목표로 한다. 통상분할조사치료법(daily fractionated radiation therapy)은 약 2 Gy의 동일한 선량을 하루 간격으로 주 5회, 약 5-7주간 조사하는 방법이다. 본 치료법은 1회 방사선을 조사한 후 다음 방사선을 조사하기까지 하루의 간격을 두어, 정상 세포가 충분히 회복할 수 있는 시간을 주고 정상세포의 피폭을 최소화한다.

본 연구에서는 총 조사선량이 동일할 때, 단일조사보다 통상분할조사의 세포 생존율이 높은 이론적 근거가 분 단위의 beam-off time이 존재하는 고선량(10, 15, 20 Gy)의 간헐적 방사선 조사(intermittent exposure)에서도 적용되는지 확인하였다. 고선량 X선을 5회로 나누어 간헐적으로 조사할 때 방사선 조사 간 beam-off time은 1분, 2분 그리고 4분으로 하였다. 선량 전달 패턴(dose delivery pattern)에 따른 세포 영향은 in vitro 실험을 통해 세포군집형성능으로 확인하였다. 간헐적 선량 전달 패턴은 균일(uniform), 증가(increasing), 감소(decreasing) 패턴을 적용하였다. 정상세포 보호와 암세포 사멸이라는 방사선 치료 목적에 근거하여 간헐적 선량 전달 패턴으로부터 기대할 수 있는 치료 이득에 대해 검토해보았다.

주요어 : 간헐적 조사, 방사선 분할 조사, 선량 전달 패턴, 치료 이득

학 번 : 2015-21314

목 차

초 록	i
목 차	ii
표 목 차	iv
그림목차	v
제 1 장 서론	1
제 2 장 배경이론	3
2.1. Linear quadratic(LQ) model	3
2.2. 방사선 분할 조사(Fractionated irradiation)	4
2.3. Normal or tumor control probability	6
2.4. 표적 조직의 체적 설정	8
2.5. 선행연구	9
2.5.1. L-S sequence와 S-L sequence의 생존율 차이 ...	9
2.5.2. Triangle shaped dose pattern과 V-shaped dose pattern의 생존율 차이	11
제 3 장 대상 및 방법	14
3.1. 세포 및 세포 배양	14
3.2. X선 조사	14
3.3. 세포군집형성능(Clonogenic assay)	18
3.4. 통계적 분석	19

제 4 장 결과 및 분석	20
4.1. 세포 생존율 분석(Clonogenic survival)	20
4.2. 치료 이득(Therapeutic gain)	24
4.3. 세포의 방사선에 대한 민감도 차이	29
4.3.1. 단일조사와 간헐적 선량 전달 패턴에 따른 세포의 방사선 민감도 차이	29
4.3.2. 정상세포와 암세포의 방사선 민감도 차이	30
4.4. 간헐적 선량 전달 패턴 간 생존율 차이	32
4.4.1. 균일 패턴 vs. 비 균일 패턴	33
4.4.2. 증가 패턴 vs. 감소 패턴	34
 제 5 장 결론	 44
 참고문헌	 46
 Abstract	 50

표 목 차

[Table 3.1] 총 조사선량이 10 Gy일 때 X선 조사 조건	15
[Table 3.2] 총 조사선량이 15 Gy일 때 X선 조사 조건	16
[Table 3.3] 총 조사선량이 20 Gy일 때 X선 조사 조건	17

그 립 목 차

[Fig 2.1] 분할 조사 혹은 단일조사에 의한 세포 생존율 변화를 선량에 따라 나타낸 그래프	5
[Fig 2.2] 조사선량에 대한 종양 억제 가능성 또는 정상 조직 손상 가능성의 개형도	7
[Fig 2.3] 방사선 치료 시 고려해야 할 주요 체적	8
[Fig 2.4] 총 2 Gy 선량에 대한 S-L sequence와 L-S sequence의 생존율 그래프	10
[Fig 2.5] Triangle shaped dose pattern and V-shaped dose pattern	12
[Fig 2.6] Triangle shaped dose pattern과 V-shaped dose pattern에 의한 (a) WiDr cells, (b) PC-3 cells, (c) SQ-20B cells의 생존율 그래프	13
[Fig 3.1] 총 조사선량 10 Gy, beam-off time 2분에 대한 선량 전달 패턴의 개형	15
[Fig 3.2] 총 조사선량 15 Gy, beam-off time 2분에 대한 선량 전달 패턴의 개형	16
[Fig 3.3] 총 조사선량 20 Gy, beam-off time 2분에 대한 선량 전달 패턴의 개형	17
[Fig 4.1] 총 선량이 10 Gy일 때 단일조사, 간헐적 선량 전달 패턴과 각각 beam-off time 1분, 2분, 4분에 대한 정상 간뇌 세포, 신경교종세포의 생존율 그래프	21
[Fig 4.2] 총 선량이 15 Gy일 때 단일조사, 간헐적 선량	

전달 패턴과 각각 beam-off time 1분, 2분, 4분에 대한 정상 간뇌 세포, 신경교종세포의 생존율 그래프	22
[Fig 4.3] 총 선량이 20 Gy일 때 단일조사, 간헐적 선량 전달 패턴과 각각 beam-off time 1분, 2분, 4분에 대한 정상 간뇌 세포, 신경교종세포의 생존율 그래프	23
[Fig 4.4] 총 선량 10 Gy일 때 간헐적 선량 전달 패턴에 의한 정상 간뇌 세포와 신경교종세포의 표준화된 생존율 그래프	25
[Fig 4.5] 총 선량 15 Gy일 때 간헐적 선량 전달 패턴에 의한 정상 간뇌 세포와 신경교종세포의 표준화된 생존율 그래프	26
[Fig 4.6] 총 선량 20 Gy일 때 간헐적 선량 전달 패턴에 의한 정상 간뇌 세포와 신경교종세포의 표준화된 생존율 그래프	27
[Fig 4.7] 각 총 조사선량에 대해 간헐적 선량 전달 패턴과 단일조사의 치료 이득을 비교한 그래프	28
[Fig 4.8] 정상 간뇌 세포와 신경교종세포의 조사선량에 따른 생존율 변화를 나타낸 그래프	31
[Fig 4.9] 총 조사선량 3.97 Gy, 4.86 Gy에 대해 단일조사와 선량 크기가 다른 두 partial fractions의 간헐적 조사 순서가 달라졌을 때 정상 간뇌 세포와 신경교종세포의 생존율 그래프	37
[Fig 4.10] 총 선량 10 Gy에서 간헐적 선량 전달 패턴의 선량에 따른 정상 간뇌 세포의 이론적인 생존율	

변화 그래프	38
[Fig 4.11] 총 선량 10 Gy에서 간헐적 선량 전달 패턴의 선량에 따른 신경교종세포의 이론적인 생존율 변화 그래프	39
[Fig 4.12] 총 선량 15 Gy에서 간헐적 선량 전달 패턴의 선량에 따른 정상 간뇌 세포의 이론적인 생존율 변화 그래프	40
[Fig 4.13] 총 선량 15 Gy에서 간헐적 선량 전달 패턴의 선량에 따른 신경교종세포의 이론적인 생존율 변화 그래프	41
[Fig 4.14] 총 선량 20 Gy에서 간헐적 선량 전달 패턴의 선량에 따른 정상 간뇌 세포의 이론적인 생존율 변화 그래프	42
[Fig 4.15] 총 선량 20 Gy에서 간헐적 선량 전달 패턴의 선량에 따른 신경교종세포의 이론적인 생존율 변화 그래프	43

제 1 장 서 론

일반적으로 방사선을 이용한 수술(radiosurgery) 및 치료(radiotherapy)는 정상세포의 피폭을 최소화하면서 암세포를 효과적으로 사멸시키는 것을 목표로 삼는다. 1970년대 후반에 도입된 감마 나이프(Gamma knife)를 이용한 방사선 수술은 201개의 Co-60 선원으로부터 나오는 감마선을 표적에 집중적으로 조사한다. 표적에 조사하는 선량은 8-24 Gy 또는 그 이상의 수준이다.[1]

Linear accelerator의 도입은 방사선 수술의 발전에 영향을 주었다. Linear accelerator 기반의 방사선 수술에서는 고선량 방사선을 동일한 크기의 작은 선량으로 나누어 간헐적으로 조사하는 방법을 적용할 수 있게 되었다.[2] 방사선의 간헐적 수술은 시간에 대해 정해진 가이드라인은 없으며 표적 세포의 형태 및 위치, 생물학적 특성이나 기타 외부 요인 등을 고려하여 유동적으로 진행되고 있다.[3]

통상분할조사치료법(Daily fractionated radiation therapy)은 약 2 Gy의 동일한 선량을 하루 간격으로 주 5회, 약 5-7주간 조사한다.[4] 본 치료법은 1회 방사선을 조사한 후 다음 방사선을 조사하기까지 하루의 간격을 두어, 정상세포가 충분히 회복할 수 있는 시간을 주고 정상세포의 피폭을 최소화하는데 목적이 있다. 방사선 수술은 고선량 방사선을 동일한 크기의 작은 선량으로 나누어 분 단위의 beam-off time을 두는 간헐적 조사(intermittent exposure)를 수행한다. 분 단위의 beam-off time이 정상 세포가 손상을 충분히 회복할 수 있는 시간은 아니지만, 간헐적 조사 시 표적이 되는 암세포 주변에 분포한 정상세포의 피폭을 줄이면서 암세포에 선량을 집중적으로 조사할 수 있다.

본 연구에서는 총 조사선량이 동일할 때, 단일조사보다 통상분할조사의 세포 생존율이 높은 이론적 근거가 분 단위의 beam-off time이 존재하는 고선량의 간헐적 방사선 조사에서도 적용되는지 확인하였다. 기존에

고선량 방사선을 동일한 크기의 선량으로 나누어 간헐적으로 조사하는 방법을 균일 패턴(uniform pattern), 본 연구에서 도입한 선량의 크기가 점차 증가하는 간헐적 조사 방법을 증가 패턴(increasing pattern), 그리고 선량의 크기가 점차 감소하는 간헐적 조사 방법을 감소 패턴(decreasing pattern)으로 각각 정의하였다. 동일한 총 조사선량에 대해 선량의 크기가 점차 증가 혹은 감소하는 패턴으로 X선을 조사했을 때, 기존의 균일 간헐 조사 방법과 비교해 세포의 생존율이 달라지는지 확인하였다.

고선량 X선을 5회로 나누어 간헐적으로 조사할 때 선량 전달 패턴(dose delivery pattern)에 따른 세포 영향을 확인하기 위한 in vitro 실험을 계획하여 수행하였다. 5번의 간헐적 조사에서 방사선 조사 간 beam-off time은 1분, 2분 그리고 4분으로 하였다. 각 선량 전달 패턴에 대해 정상 간뇌 세포(rat normal diencephalon cells)와 신경교종 세포(rat gliosarcoma cells)의 생존율을 확인하였고 마지막으로 간헐적 선량 전달 패턴으로부터 기대할 수 있는 치료 이득에 대해 검토해보았다.

제 2 장 배경이론

2.1. Linear quadratic(LQ) model

Linear quadratic(LQ) model은 방사선에 의한 세포 생존 곡선을 설명할 수 있는 수학적 모델이다. LQ 모델은 방사선에 의한 세포 사멸에 두 가지 요소가 있다고 설명한다. 하나는 조사선량에 비례하는 값(α)이고 다른 하나는 조사선량의 제곱에 비례하는 값(β)이다. LQ 모델에 의한 세포의 생존 곡선은 다음 식으로 나타낼 수 있다.

$$S(D) = e^{-(\alpha D + \beta D^2)}$$

$S(D)$: 조사선량 D 에서의 세포 생존율

D : 조사선량

α, β : constants

위 식에서 α 는 세포 생존 곡선에서 조사선량에 대한 1차 계수이며 상대적 저선량에서 선형 기울기를 의미한다. β 는 2차 계수이며 고선량에서 생존 곡선이 이차곡선의 형태를 띠게 한다. α 와 β 각각에 의한 세포 사멸 효과가 같아지는 방사선량은 α/β ratio 이다. 즉, 세포 사멸에 대한 방사선의 선형적 기여도와 이차형태의 기여도가 같아지는 방사선량이 곧 α/β ratio 라고 할 수 있다.[5]

$$\alpha D = \beta D^2 \text{ 혹은 } D = \alpha/\beta$$

2.2. 방사선 분할 조사(Fractionated irradiation)

방사선 분할 조사 치료법은 계획된 총 선량을 수회에서 수십 회에 걸쳐 균일하게 나누어 조사하는 암 치료법이다. 통상분할조사치료는 약 2 Gy 선량을 하루 간격으로 5-7주 동안 진행되는 것이 일반적이다. 분할 조사를 수행하면 방사선 조사 간 휴지 기간 동안 세포가 방사선에 의한 손상을 회복할 수 있다. 따라서 분할 조사를 수행하는 것은 단일조사보다 정상 세포가 충분히 회복할 수 있는 시간을 주고 정상세포의 피해를 최소화하는데 목적이 있다.[4]

이론적으로 방사선 조사 간 휴지 기간인 하루 동안 세포가 이전 방사선에 의한 손상으로부터 충분히 회복한다고 가정한다. 따라서 1회 2 Gy 선량에 노출된 후 하루 동안 충분히 회복을 마친 세포는 다음 2 Gy 선량에 노출되었을 때, 충분한 회복을 거쳤기 때문에 초기 생존 곡선의 기울기에 따라 생존율이 변하게 된다.[5](Fig 2.1)

결과적으로 분할 조사 치료에서 방사선 조사 간에 정상세포가 충분히 회복할 수 있는 시간이 존재하는 것이 단일조사보다 세포 생존율이 더 높은 이론적 근거가 된다. 본 연구에서는 비교적 고선량 X선을 분(minute) 단위의 beam-off time을 두고 간헐적으로 세포에 조사했을 때에도 동일한 이론적 근거가 적용되는지 확인하였고, 간헐적 선량 전달 패턴에 따라 생존율에 차이가 있는지 확인하였다.

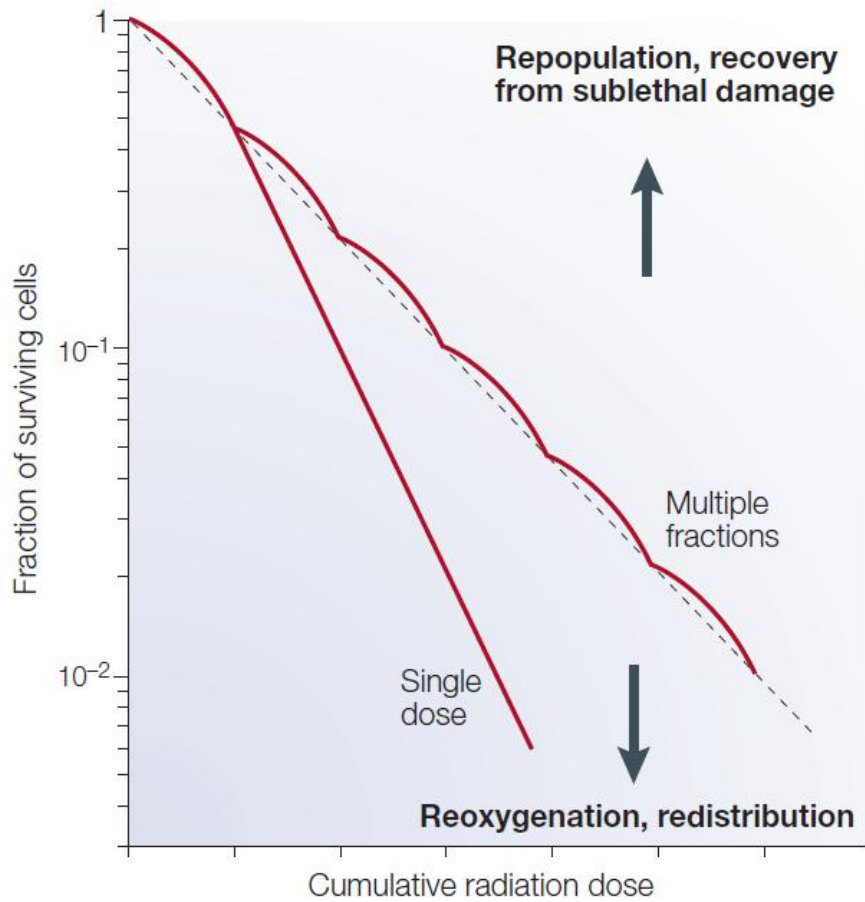


Fig 2.1 분할 조사 혹은 단일조사에 의한 세포 생존율 변화를 선량에 따라 나타낸 그래프이다. 분할 조사 시에는 조사 간에 세포가 충분히 회복할 수 있는 시간이 주어지므로 단일조사에 의한 초기 생존 곡선 기울기를 따라 생존율이 변한다.[4]

2.3. Normal or tumor control probability

방사선을 간헐적으로 조사하면 방사선 조사 간 beam-off time이 존재하므로 단일조사에 비해 방사선 조사 시간이 늘어난다. Beam-off time 동안 세포의 아치사 손상(sublethal damage)의 회복이 발생하므로 방사선에 의한 세포 사멸 효과가 감소하는 경향을 보인다.[6] 방사선 수술과 치료에서 종양에 전달되는 선량을 증가시켜 종양에 대한 국부 제어 능력을 향상시키는 것이 중요하다. 동시에 방사선 치료에 의한 부작용을 줄이기 위해 정상 조직을 보호하여 치료 효과를 높이는 것도 필요하다.

Fig 2.2는 종양 억제 가능성(Tumor control probability, TCP) 또는 정상 조직 손상 가능성(Normal tissue complication probability, NTCP)의 조사선량에 따른 개형을 나타낸 것이다. 정상 조직을 보호하는 것은 정상 조직의 방사선에 의한 손상 범위를 같은 선량일 때 더 낮게 또는 더 높은 선량일 때 동일한 손상 범위에 도달하게 하면서 NTCP 곡선을 오른쪽으로(B에서 C로) 이동시킨다. 따라서 간헐적 조사는 종양에 단일 조사 대비 동일한 선량을 조사하여 정상 조직을 보호함으로써 부작용을 줄일지 혹은 더 높은 선량을 조사하여 종양 억제 가능성을 높일 것인지를 두고 환자의 상태, 외부 요인, 대상 조직의 생물학적 특성 등을 고려해 진행될 수 있다.[7, 8] 종양에 대한 방사선 효과의 증강율과 정상 조직에 대한 효과의 증강율의 비인 Therapeutic gain factor 개념을 본 논문에서는 in vitro 실험을 통해 얻은 생존율의 비로 차용하여 치료 이득(Therapeutic gain, TG)을 정의하였다.

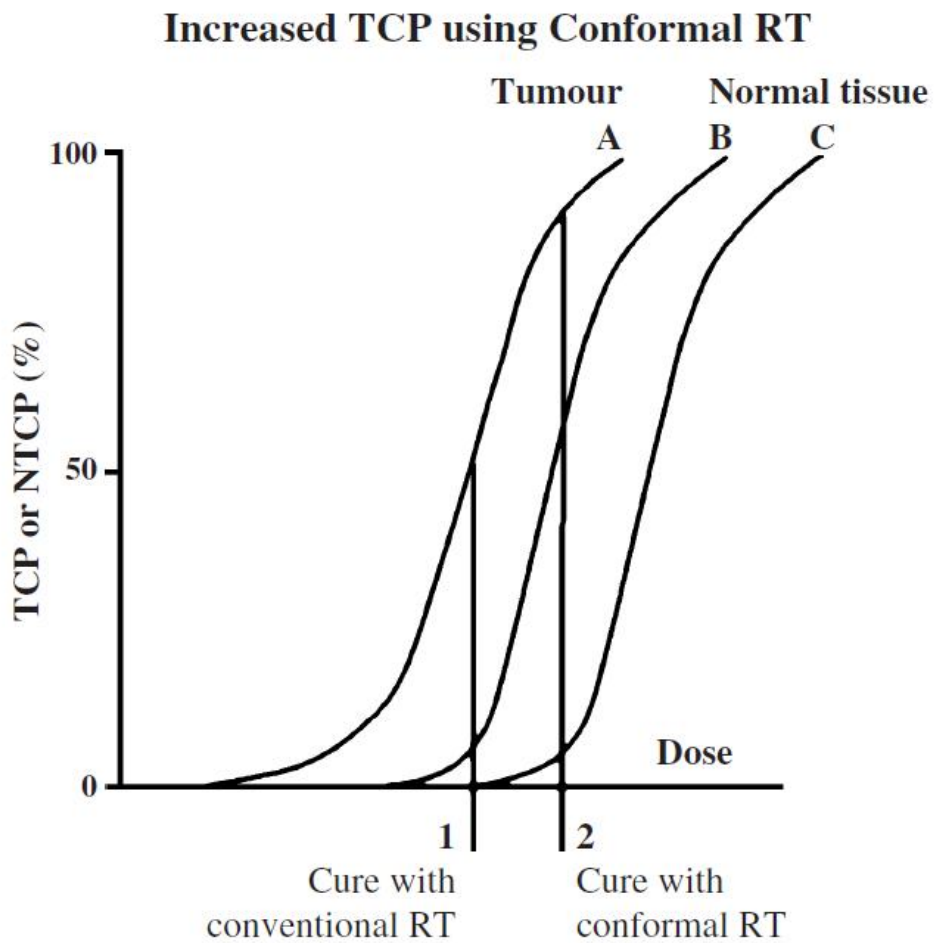


Fig 2.2 조사선량에 대한 종양 억제 가능성(Tumor control probability, TCP) 또는 정상 조직 손상 가능성(Normal tissue complication probability, NTCP)의 개형도.[7]

2.4. 표적 조직의 체적 설정

방사선 치료 시 치료 방식의 최적화를 위해 표적이 되는 대상의 체적을 어떻게 결정하느냐가 중요하다. 방사선 치료를 계획할 때, 주로 고려해야 할 세 가지 체적이 있다. 첫 번째는 육안적 종양 체적(Gross tumor volume, GTV)이다. CT나 MRI를 통해 육안으로 보여 지는 종양의 체적을 의미한다. 두 번째는 GTV를 포함하여 잠재적으로 종양이 퍼져 있다고 보는 임상 표적 체적(Clinical target volume, CTV)이다. CTV는 실질적으로 선량이 전달되는 영역이므로 성공적인 치료를 위해 적절한 CTV 설정이 중요하다. 마지막으로 치료 계획이나 선량 전달의 불확실성에 대한 보정으로 계획용 표적 체적(Planning target volume, PTV)을 고려해야 한다.[7] 표적 대상의 위치, 형태, 생물학적 특성, 환자의 상태 등을 고려해 실제 치료 시 암세포를 효과적으로 제거하기 위해서는 GTV와 CTV의 여유도(margin)를 크게 잡을 수 있다. 반대로 방사선에 민감한 정상세포가 표적 주변에 존재한다면 GTV와 CTV의 여유도를 줄여 정상 조직의 피폭을 최소화할 수 있다.

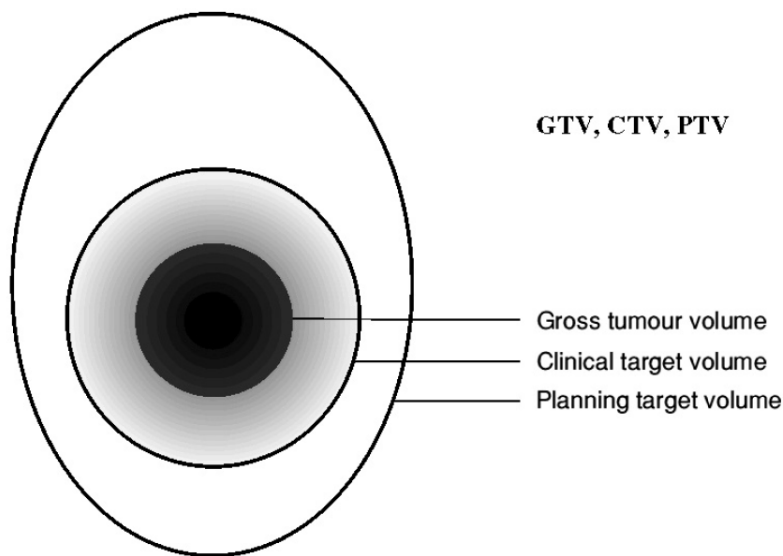


Fig 2.3 방사선 치료 시 고려해야 할 주요 체적.[7]

2.5. 선행연구

2.5.1. L-S sequence와 S-L sequence의 세포 생존율 차이

선행연구에서는 통상분할조사의 하루 조사선량인 2 Gy로 X선을 조사할 때, 서로 다른 선량 크기인 partial fractions의 배열순서에 따라 방사선의 세포 영향이 달라지는지 확인하기 위한 in vitro 실험을 수행하였다. 2 Gy를 1.3-1.5 Gy/m의 선량률로 2-4회 나누어 간헐적으로 조사하였고, 두 partial fractions간 beam-off time은 2분으로 하였다. Partial fraction은 선량이 0.5 Gy 미만인 small unit dose(S)와 1 Gy 이상인 large unit dose(L)로 구분하였다. 동일한 세포에 S-L sequence와 L-S sequence로 X선을 조사하였더니 L-S sequence일 때 세포의 생존율이 더 높았다.[9] (Fig 2.4)

다른 선행연구에서는 간헐적으로 방사선을 조사할 때 연속하는 두 partial fractions간 beam-off time에 따라 방사선의 세포 영향이 달라질 수 있다고 언급하였다. 이는 방사선을 조사하는 도중 혹은 방사선에 피폭된 직후 세포에서 회복 기작이 작용하기 때문이며, beam-off time이 늘어남에 따라 세포의 생존율이 증가하였다.[10, 11] 본 연구에서도 beam-off time을 1분, 2분과 실험이 가능한 최대 4분까지 적용하여 실험하였다.

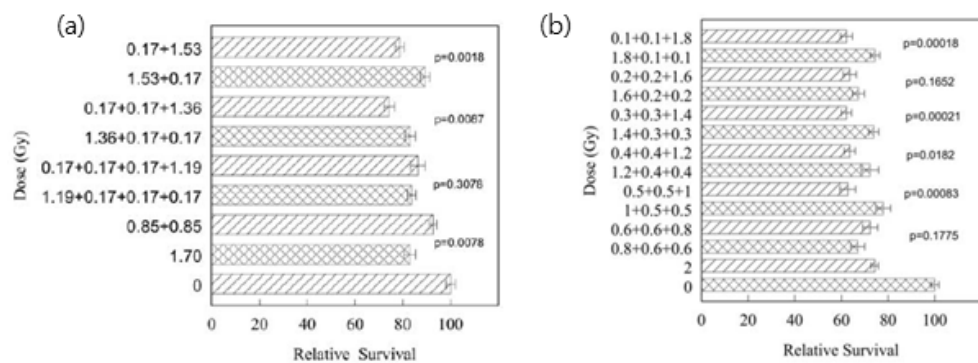


Fig 2.4 총 2 Gy 선량을 1.3-1.5 Gy/m의 선량률로 2-4회 나누어 간헐적으로 조사하였고, 두 partial fractions간 beam-off time은 2분이었다. (a) HT-29 cells, (b) V79 cells에 대한 생존율을 나타내며 실험 결과, S-L sequence보다 L-S sequence일 때 생존율이 높았다.[9]

2.5.2. Triangle shaped dose pattern과 V-shaped dose pattern의 생존율 차이

통상분할조사와는 다르게 IMRT(intensity-modulated radiotherapy)는 다양한 세기의 빔을 구현할 수 있어, 다양한 크기의 선량률 및 선량의 빔을 여러 번에 나누어 조사할 수 있다.[6] 선행연구에서 Monte-carlo simulation을 통해 다양한 세기의 방사선을 임의로 배치했을 때 방사선 조사 시작과 끝에서 세포의 방사선에 대한 민감도가 상대적으로 낮다는 것을 확인하였다.[12]

선행연구의 결과에 따르면 방사선 조사 구간의 시작과 마지막 단계에 가장 낮은 선량을 대칭적으로 배치하고 중앙에 가장 높은 선량을 배치하는 triangle shaped dose pattern(Fig 2.5, a)에서 세포의 생존율이 다른 빔속 분포와 비교했을 때 가장 낮게 나타났다. 반면 방사선 조사 구간의 시작과 마지막 단계에 가장 높은 선량을 대칭적으로 배치하고 중앙에 가장 낮은 선량을 배치하는 V-shaped dose pattern(Fig 2.5, b)에서 세포의 생존율이 가장 높게 나타났다.[13-16](Fig 2.6)

본 연구에서는 선행연구로부터 고선량 방사선을 다양한 크기의 선량률 및 선량의 빔으로 조사하는 X선 조사 조건을 착안하였다. X선을 5회 간헐적으로 조사할 때 빔속이 점차 증가 혹은 감소하는 패턴에 따라 세포 생존율이 달라지는지 in vitro 실험을 통해 확인하였다.

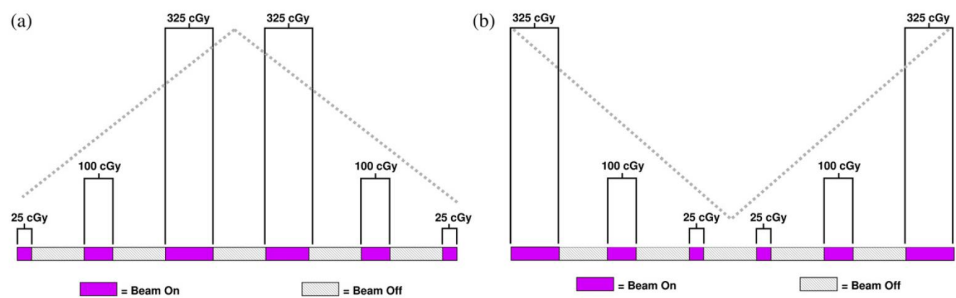


Fig 2.5 총 선량이 900cGy일 때 6개의 빔속 분포를 시간에 따라 (a) Triangle shaped dose pattern, (b) V-shaped dose pattern으로 나타낸 개형도이다. Triangle shaped dose pattern에서 생존율이 가장 낮고, V-shaped dose pattern에서 생존율이 가장 높다.[13]

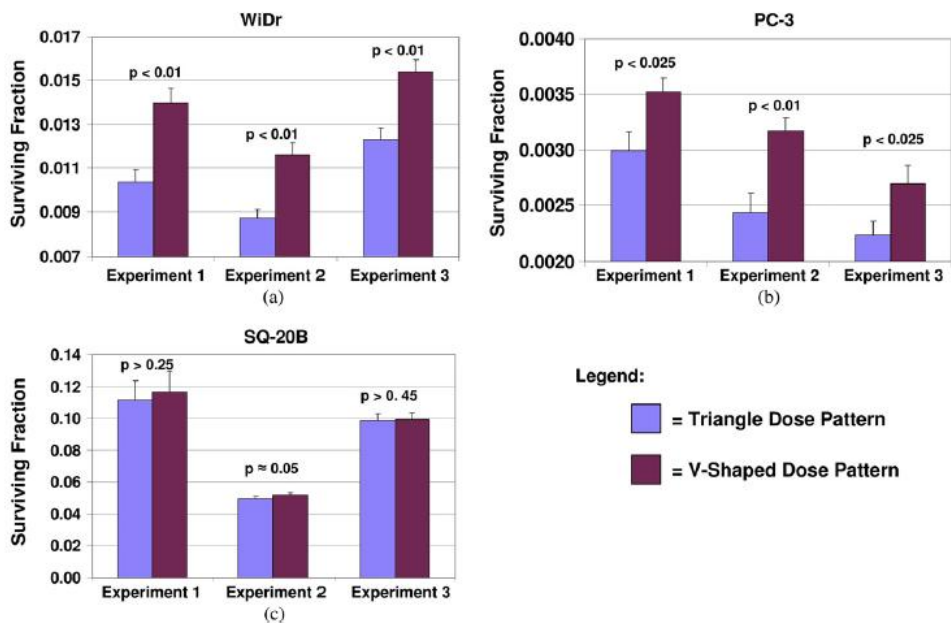


Fig 2.6 Triangle shaped dose pattern과 V-shaped dose pattern으로 X선을 조사하였을 때 (a) WiDr cells, (b) PC-3 cells, (c) SQ-20B cells의 생존율을 나타낸 그래프이다. 전체적으로 V-shaped dose pattern이 triangle dose pattern보다 생존율이 높다.[13]

제 3 장 대상 및 방법

3.1. 세포 및 세포 배양

본 연구에서는 정상 간뇌 세포인 Rat normal diencephalon cell(ATCC, CRL-2005)과 신경교종세포인 Rat gliosarcoma cell(ATCC, CRL-2200)을 사용하였다. 두 세포는 10% Fetal bovine serum(FBS; ATCC)과 90% Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM; HyClone)으로 구성된 배양액을 사용하여 37 °C의 온도와 10% CO₂ 환경이 유지되는 인큐베이터 안에서 배양되었다. 세포의 건전성을 유지하기 위해 배양액은 3일 주기로 교체하였으며, 세포 배양 용기인 T-25 plastic flask(NUNC) 표면의 70% 이상이 세포로 포화되기 전에 여러 개의 T-25 plastic flask에 나누어 재 배양하였다.

3.2. X선 조사

X선 조사는 서울대학교 원자핵공학과 방사선생명공학연구실 소유의 X-ray beam tube(450-D08, YXLON, Germany)를 사용하여 수행하였다. 모든 조건에서 가동전압은 350 kV로 동일하게 하고 총 조사선량은 방사선 수술의 조사선량 범위에 속하는 10, 15, 20 Gy로 계획하였다. 각 총 조사선량에 대해 단일조사와 간헐적 선량 전달 패턴을 적용하였다. 간헐적 선량 전달 패턴은 모두 5 번의 partial fractions를 두었고, 연속하는 두 partial fractions간 beam-off time은 실험 여건을 고려하여 1분, 2분, 4분으로 하였다. Fig 3.1 - 3.3과 Table 3.1 - 3.3은 총 조사선량이 10, 15, 20 Gy일 때 X선 조사 조건을 나타낸 그래프와 표이다.

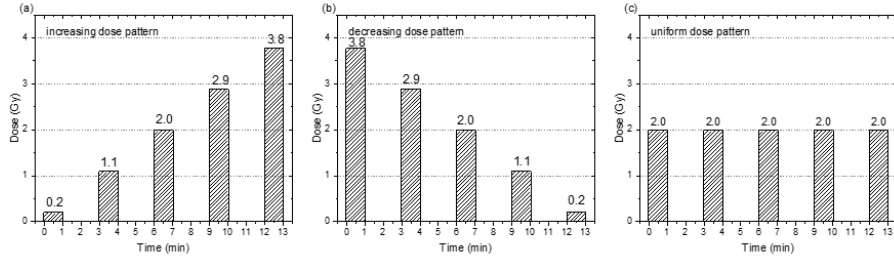


Fig 3.1 총 조사선량 10 Gy, beam-off time 2분에 대한 선량 전달 패턴의 개형도이다. (a) 증가, (b) 감소, (c) 균일 패턴에서 두 partial fractions간 beam-off time은 1분, 2분 또는 4분으로 하였다.

Table 3.1 총 조사선량이 10 Gy일 때 X선 조사 조건

Delivery pattern	Voltage (kV)	Current (mA)	Time(s)	Dose(Gy)	Dose rate (Gy/m)
Increasing or Decreasing pattern	350	9.3	60	3.77377	3.77377
		7.1	60	2.88105	2.88105
		4.9	60	1.98833	1.98833
		2.7	60	1.09561	1.09561
		0.5	60	0.20289	0.20289
Total			300	9.94165	
Uniform pattern	350	4.9	60s x 5회	1.98833 Gy x 5회	1.98833
Total			300	9.94165	
Single	350	4.9	300	9.94167	1.98833

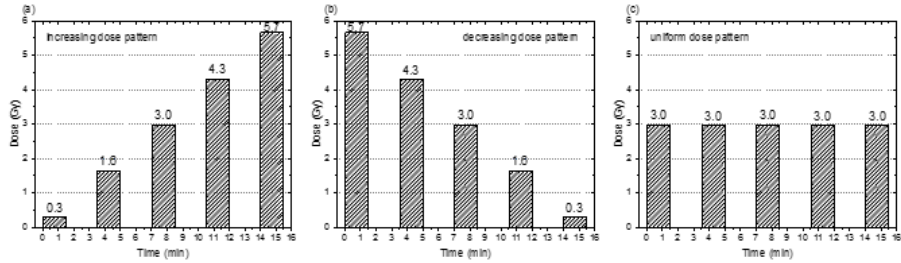


Fig 3.2 총 조사선량 15 Gy, beam-off time 2분에 대한 선량 전달 패턴의 개형도이다. (a) 증가, (b) 감소, (c) 균일 패턴에서 두 partial fractions간 beam-off time은 1분, 2분 또는 4분으로 하였다.

Table 3.2 총 조사선량이 15 Gy일 때 X선 조사 조건

Delivery pattern	Voltage (kV)	Current (mA)	Time(s)	Dose(Gy)	Dose rate (Gy/m)
Increasing or Decreasing pattern	350	9.3	90	5.66066	3.77377
		7.1	90	4.32158	2.88105
		4.9	90	2.9825	1.98833
		2.7	90	1.64341	1.09561
		0.5	90	0.30433	0.20289
Total			450	14.91248	
Uniform pattern	350	4.9	90s x 5회	2.9825 Gy x 5회	1.98833
Total			450	14.9125	
Single	350	4.9	450	14.91251	1.98833

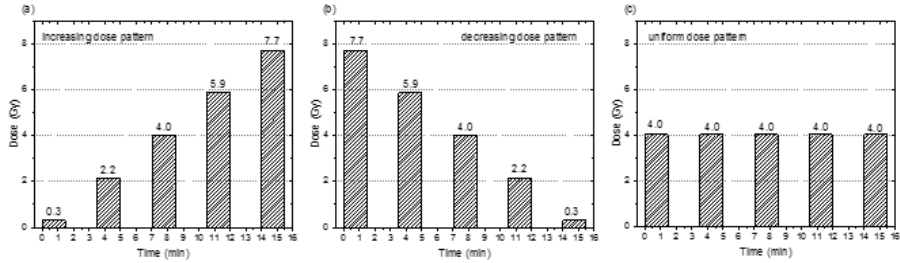


Fig 3.3 총 조사선량 20 Gy, beam-off time 2분에 대한 선량 전달 패턴의 개형도이다. (a) 증가, (b) 감소, (c) 균일 패턴에서 두 partial fractions간 beam-off time은 1분, 2분 또는 4분으로 하였다.

Table 3.3 총 조사선량이 20 Gy일 때 X선 조사 조건

Delivery pattern	Voltage (kV)	Current (mA)	Time(s)	Dose(Gy)	Dose rate (Gy/m)
Increasing or Decreasing pattern	350	12.7	90	7.73016	5.15344
		9.65	90	5.8737	3.9158
		6.6	90	4.01724	2.67816
		3.55	90	2.16079	1.44052
		0.5	90	0.30433	0.20289
Total			450	20.08622	
Uniform pattern	350	6.6	90s x 5회	4.01724 Gy x 5회	2.67816
Total			450	20.0862	
Single	350	6.6	450	20.08624	2.67816

3.3. 세포군집형성능(Clonogenic assay)

Clonogenic assay는 방사선을 조사하기 전 세포 군집 수 대비 방사선 조사 후 세포 군집수를 계수하여 surviving fraction(SF), 즉 생존율 값을 얻는 세포실험의 결과 분석법이다. 그러나 세포를 seeding한 후 군집을 셀 때, 대조군 세포들이 모두 군집을 형성하는 것은 아니므로 plating efficiency(PE)를 고려해 보정해야한다.[17]

$$PE = \frac{\text{Number of colonies counted}}{\text{Number of cells seeded}} \times 100 (\%)$$

$$SF = \frac{\text{Number of colonies counted}}{\text{Number of cells seeded} \times PE} \times 100$$

T-25 plastic flask의 바닥 표면에 붙어있는 상태의 세포에 방사선을 조사한 후, Clean bench 내에서 Dulbecco's phosphate buffered saline(DPBS; Gibco)으로 수 회 세척하였다. Trypsinized with TrypLE Express(Gibco)를 처리하여 약 7분간 인큐베이터에서 배양한 후, 세포수를 계수하여 6-well plates(NUNC)에 각 조건별로 적절히 seeding하였다. Seeding이 완료된 세포는 인큐베이터에서 약 10-12일 간 군집이 형성되기까지 배양되었고, 세포 배양액은 3일 주기로 교체하였다.

군집이 육안으로 보이는 크기로 형성되면 배양액을 흡입한 후, DPBS로 세척하였다. 70% 에탄올을 넣어 실온에서 약 7분간 fixation 과정을 거친 후 15배로 희석한 Giemsa(Sigma-Aldrich)염색용액을 처리하여 30분-1시간 방치 후 물로 세척하였다. 완전히 건조시킨 6-well plates에서 최소 50개 이상의 세포로 이루어진 군집만을 계수하였다.

3.4. 통계적 분석

제 4 장 결과 및 분석에서 다루는 실험 결과 값은 평균값 \pm 표준 오차로 표현하였다. 비교 대상이 되는 두 실험 결과 값 간에 유의미한 차이가 있는지는 두 집단의 평균 차이를 검정하는 이표본 t-검정을 수행하여 유의확률 p값이 0.05보다 작은지 확인하였다.

제 4 장 결과 및 분석

4.1. 세포 생존율 분석(Clonogenic survival)

정상 간뇌 세포와 신경교종세포에 대해 총 선량 10, 15, 20 Gy 조건하에서 각각 beam-off time 1분, 2분 그리고 4분을 적용하여 Clonogenic assay를 수행하였다. 기존에 행해지던 치료법인 균일 간헐 조사는 그래프에서 uniform pattern, 본 연구에서 새롭게 도입한 비 균일 간헐 조사는 increasing pattern과 decreasing pattern으로 표기하였다. 마지막으로 각 총 조사선량을 짧은 시간 동안 beam-off time없이 단일로 조사하는 X선 조사 조건은 single로 표기하였다. Fig 4.1 - 4.3은 각 실험 조건에 대한 두 세포의 생존율을 X-ray 조사 패턴과 beam-off time에 따라 나타낸 그래프이다.

총 선량이 10 Gy일 때 정상 간뇌 세포는 단일조사와 비교해 간헐적 선량 전달 패턴으로 조사하는 경우 23-95% 생존율이 더 높았다. 신경교종 세포는 간헐적 선량 전달 패턴을 적용하였을 때 한 가지 조건(beam-off time이 4분일 때 증가 패턴)만 제외하고는 단일조사보다 3-34% 생존율이 더 높았다.(Fig 4.1) 총 선량이 15 Gy일 때, 정상 간뇌 세포는 단일조사와 비교해 간헐적 선량 전달 패턴에서 45-87%, 신경교종 세포는 9-59% 생존율이 더 높았다.(Fig 4.2) 총 선량이 20 Gy일 때, 정상 간뇌 세포는 단일조사와 비교해 간헐적 선량 전달 패턴에서 75-201%, 신경교종 세포는 한 가지 조건(beam-off time이 4분일 때 균일 패턴)만 제외하고 5-47% 생존율이 더 높았다.(Fig 4.3)

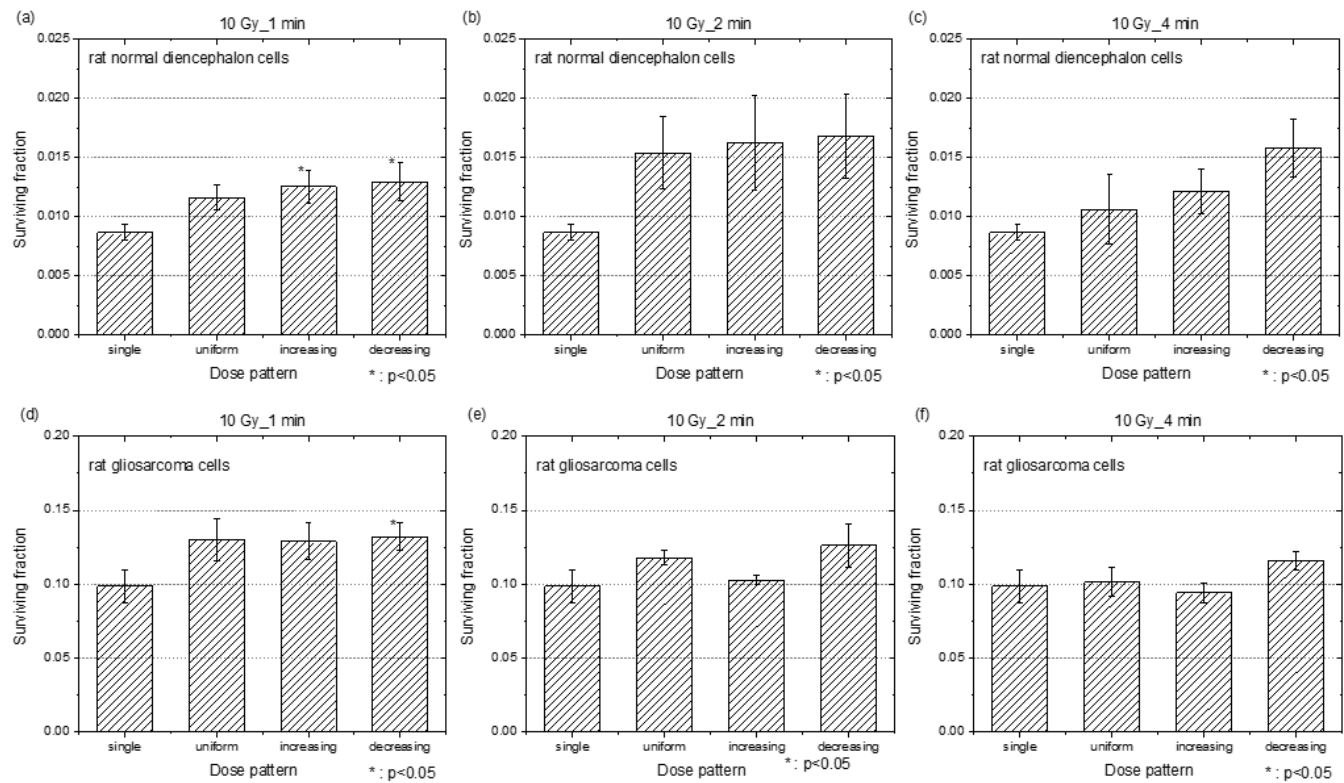


Fig 4.1 (a, b, c)는 총 조사선량이 10 Gy일 때 단일조사, 간헐적 선량 전달 패턴과 각각 beam-off time 1분, 2분, 4분에 대한 정상 간뇌 세포의 생존율을 나타낸 그래프이다. (d, e, f)는 동일 조건에 대한 신경교종세포의 생존율을 나타낸 그래프이다.

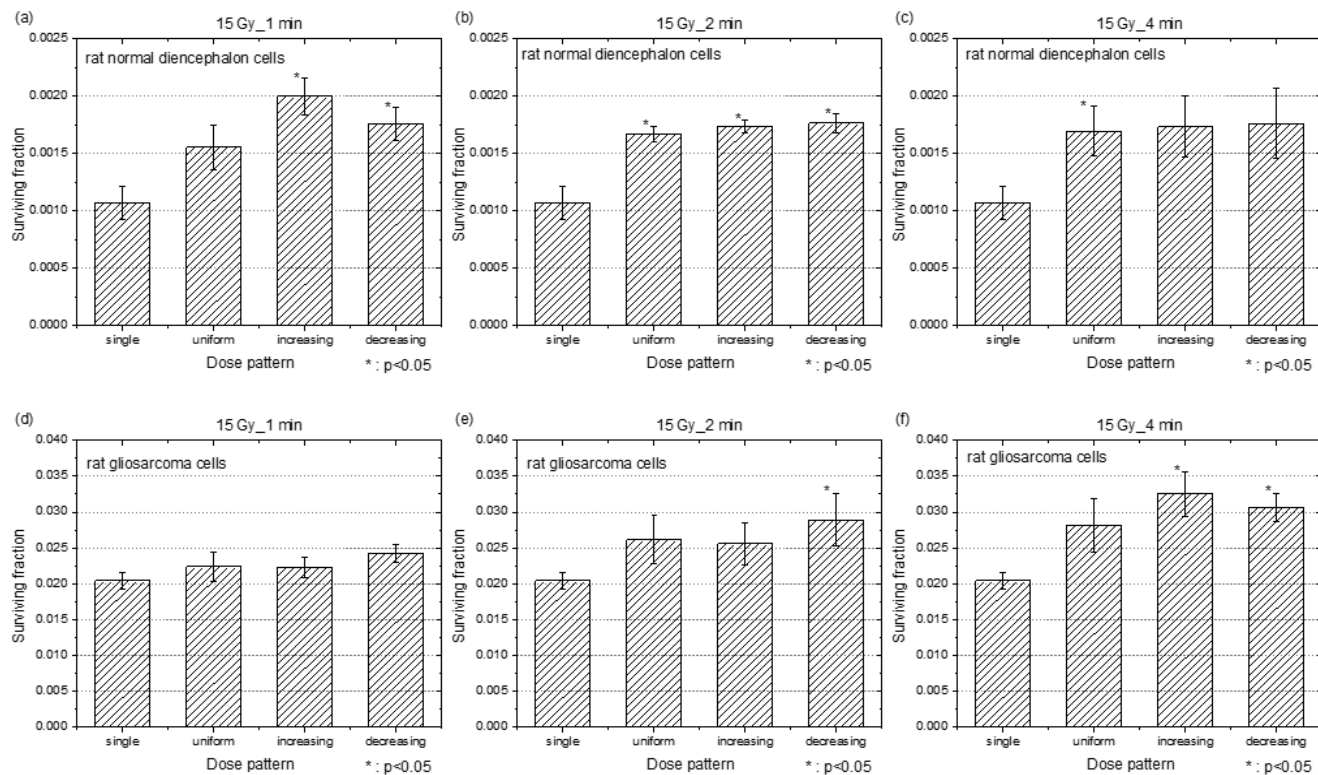


Fig 4.2 (a, b, c)는 총 조사선량이 15 Gy일 때 단일조사, 간헐적 선량 전달 패턴과 각각 beam-off time 1분, 2분, 4분에 대한 정상 간뇌 세포의 생존율을 나타낸 그래프이다. (d, e, f)는 동일 조건에 대한 신경교종세포의 생존율을 나타낸 그래프이다.

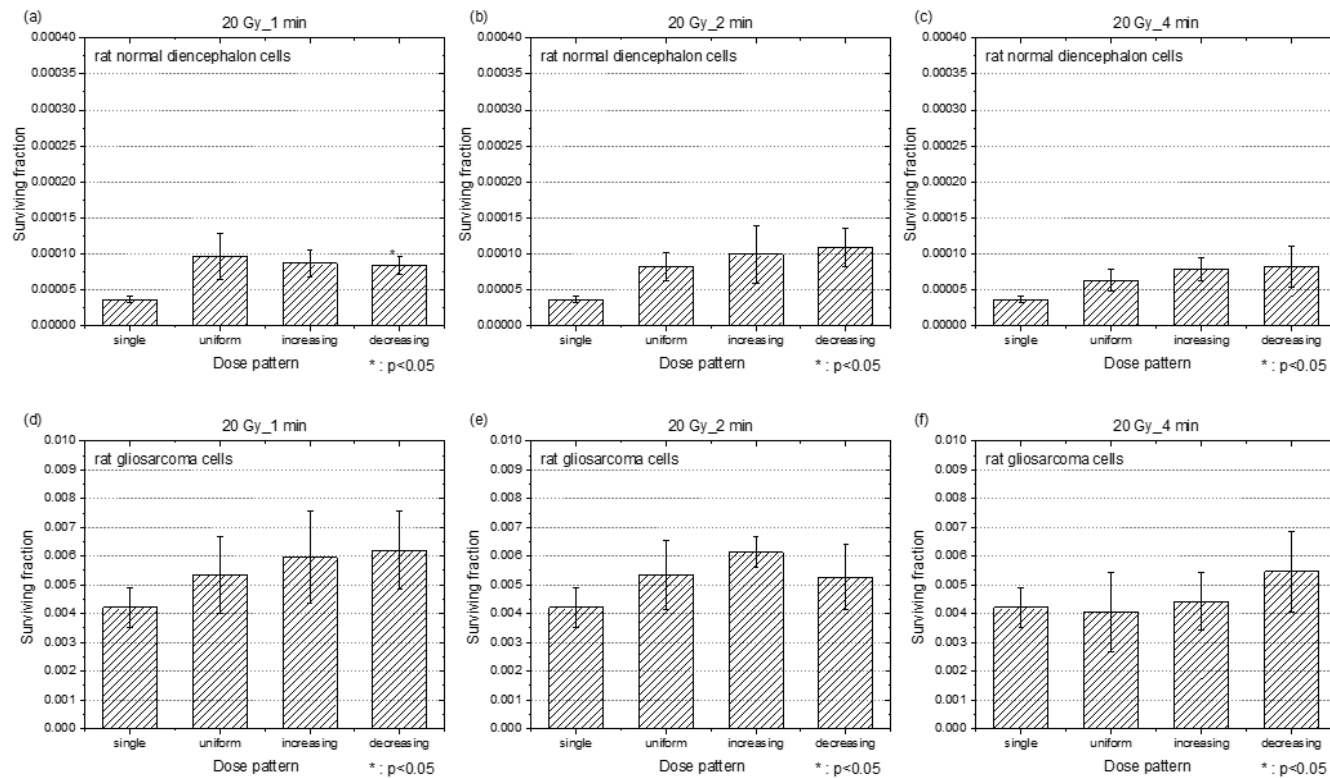


Fig 4.3 (a, b, c)는 총 조사선량이 20 Gy일 때 단일조사, 간헐적 선량 전달 패턴과 각각 beam-off time 1분, 2분, 4분에 대한 정상 간뇌 세포의 생존율을 나타낸 그래프이다. (d, e, f)는 동일 조건에 대한 신경교종세포의 생존율을 나타낸 그래프이다.

4.2. 치료 이득(Therapeutic gain)

4.1에서 세포의 군집형성능에 기반을 두어 각 X선 조사 조건과 beam-off time에 대한 정상 간뇌 세포와 신경교종세포의 생존율을 확인하였다. 4.1의 생존율 결과를 바탕으로 단일 조사와 비교했을 때, 세 가지 간헐적 선량 전달 패턴의 치료 이득(Therapeutic gain, TG)을 비교해보았다. 먼저 단일조사 시 세포의 생존율을 1로 표준화(normalization)했을 때, 각 간헐적 선량 전달 패턴에 의한 표준화된 생존율(normalized surviving fraction)을 Fig 4.4 - 4.6에 나타내었다. 치료 이득은 각 간헐적 선량 전달 패턴을 적용하였을 때 단일조사 대비 신경교종세포와 정상 간뇌 세포의 표준화된 생존율의 비로 정의하였다.

$$\text{Therapeutic gain(TG)} = \frac{\text{Normalized SF to single exposure}|_{\text{normal}}}{\text{Normalized SF to single exposure}|_{\text{tumor}}} \quad (\text{SF: surviving fraction})$$

모든 간헐적 선량 전달 패턴에서 치료 이득이 1보다 컸으며, 이는 총 조사선량이 동일할 때, 단일조사보다 간헐적 선량 전달 패턴을 적용하면 치료 이득이 더 크다는 것을 의미한다. 비 균일 패턴(증가, 감소 패턴)과 기존의 균일 간헐 조사 패턴(균일 패턴)의 치료 이득을 비교해보면 총 조사선량이 10 Gy일 때 비 균일 패턴의 치료 이득이 더 컸다. 총 조사선량이 15, 20 Gy일 때는 치료 이득 간에 일관된 경향성을 찾을 수는 없었다. 기본적으로 단일조사보다 간헐적 선량 전달 패턴에서 치료 이득이 더 큰 결과는 10 Gy 조건과 동일하였지만, 특정 beam-off time에 대해 치료 이득이 가장 큰 선량 전달 패턴이 달랐다. 모든 조건 가운데 기존의 균일 간헐 조사와 비교했을 때 치료 이득이 가장 큰 조사 조건은 총 조사선량 20 Gy와 beam-off time 2분에 대한 감소 패턴이었다.

(Fig 4.7)

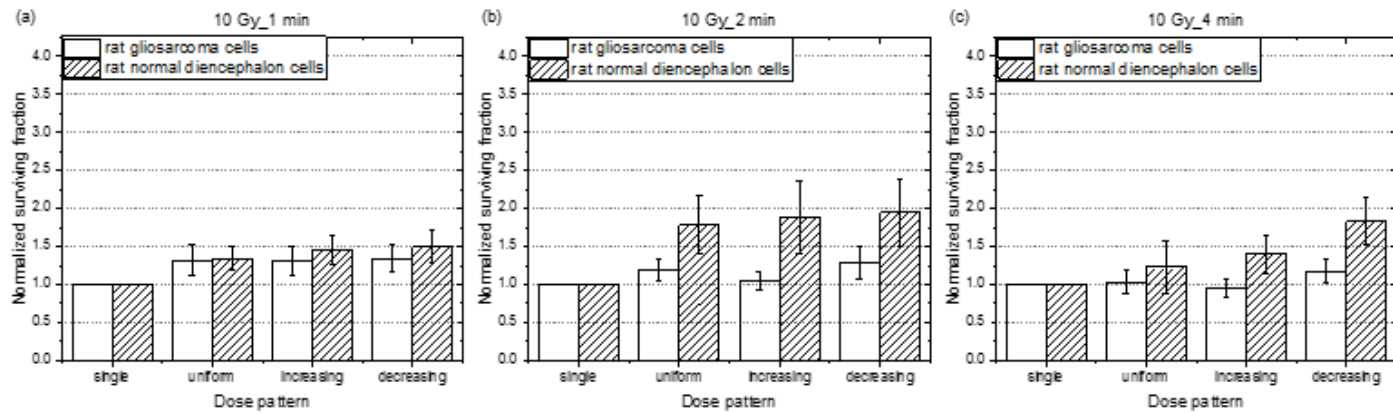


Fig 4.4 10 Gy를 단일조사 하였을 때의 생존율을 1로 표준화(normalization)한 정상 간뇌 세포와 신경교종세포의 표준화된 생존율(normalized surviving fraction)을 각 간헐적 선량 전달 패턴에 대해 나타낸 그래프이다. Beam-off time은 각각 (a) 1분, (b) 2분, (c) 4분이다.

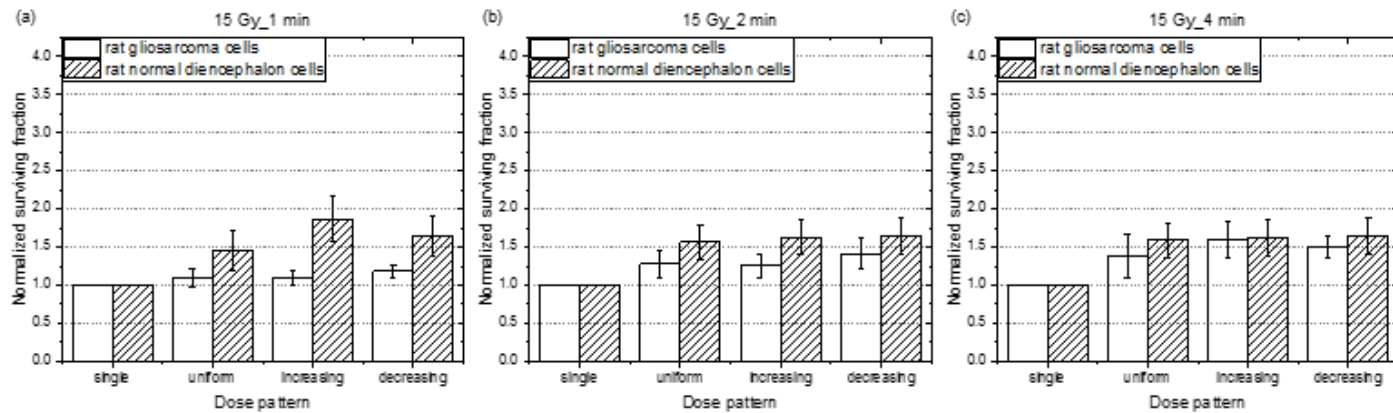


Fig 4.5 15 Gy를 단일조사 하였을 때의 생존율을 1로 표준화(normalization)한 정상 간뇌 세포와 신경교종세포의 표준화된 생존율(normalized surviving fraction)을 각 간헐적 선량 전달 패턴에 대해 나타낸 그래프이다. Beam-off time은 각각 (a) 1분, (b) 2분, (c) 4분이다.

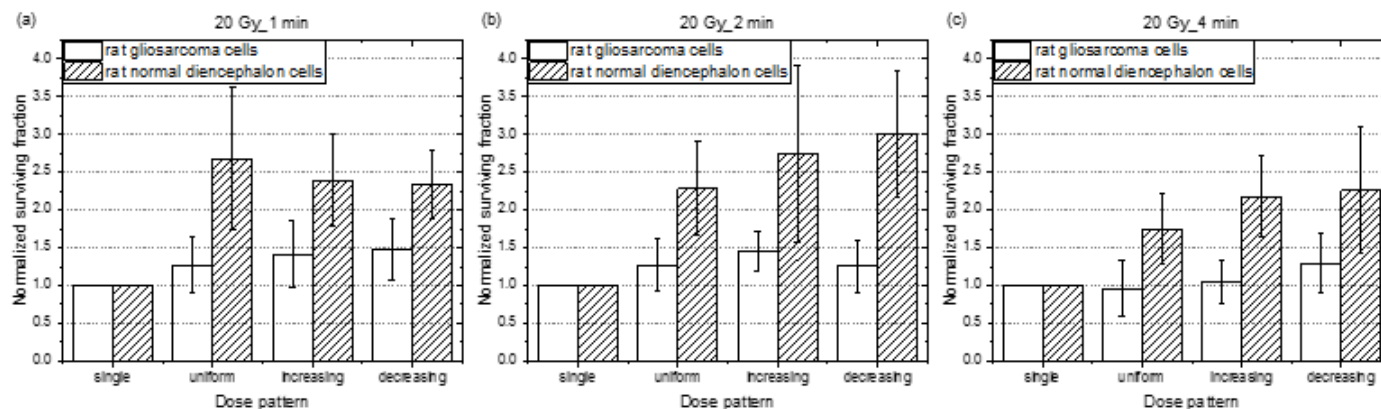


Fig 4.6 20 Gy를 단일조사 하였을 때의 생존율을 1로 표준화(normalization)한 정상 간뇌 세포와 신경교종세포의 표준화된 생존율(normalized surviving fraction)을 각 간헐적 선량 전달 패턴에 대해 나타낸 그래프이다. Beam-off time은 각각 (a) 1분, (b) 2분, (c) 4분이다.

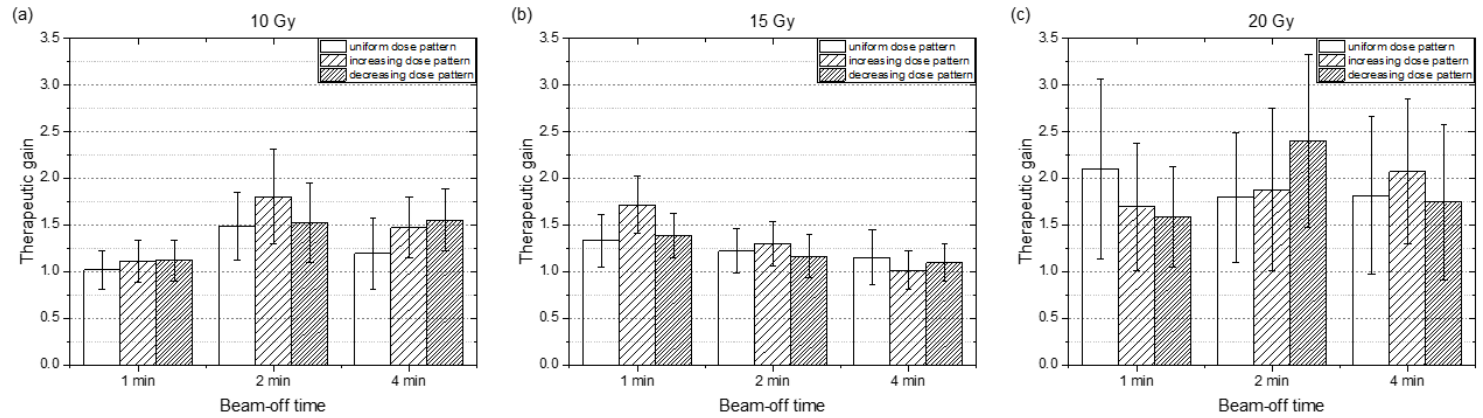


Fig 4.7 총 조사선량 (a)10 Gy, (b) 15 Gy, (c) 20 Gy에 대해 beam-off time 1분, 2분, 4분을 적용하여 균일 패턴, 비 균일 (증가, 감소)패턴으로 조사했을 때 치료 이득을 나타낸 그래프이다. 동일한 조사선량을 단일조사 하였을 때 치료 이득을 1로 표준화하였다.

4.3. 세포의 방사선에 대한 민감도 차이

4.3.1. 단일조사와 간헐적 선량 전달 패턴에 따른 세포의 방사선 민감도 차이

본 연구에서 정상 간뇌 세포와 신경교종세포 모두 단일조사보다 간헐적 선량 전달 패턴으로 조사하였을 때 생존율이 높았다. 단, 신경교종세포는 단일조사의 생존율과 비교했을 때 10 Gy 4분 감소 패턴, 20 Gy 4분 균일 패턴에서 각각 4.6%, 3.6% 생존율이 다소 감소하는 결과가 나왔다. 이 결과는 실험상의 오차에서 기인한 것으로 간주할 수 있다. 전체적으로 X선을 조사하는 시간이 beam-off time의 존재로 인해 기존 단일조사에 비해 증가하면 피폭된 직후 세포의 회복 기작이 발생하여 방사선에 의한 세포 위해가 감소하는 경향이 나타난다.[18-19] 1회 방사선 조사를 수행하면 세포가 손상을 입었으나 사멸하지는 않은 상태인 아치사 손상(sublethal damage)이 생기는데, 간헐 조사 사이의 beam-off time 동안에 아치사 손상의 회복이 일어난다. 따라서 기존 단일조사에 비해 간헐적 선량 전달 패턴에서 생존율이 증가하는 경향을 보이는 것이다.

선행연구[10, 11]의 결과에 따르면 beam-off time이 증가함에 따라 생존율 역시 증가하는 경향이 나타났다. 그러나 본 연구의 실험 결과에서는 beam-off time이 1분에서 4분으로 증가함에 따라 생존율이 증가하는 경향이 보이지 않았다. 이는 본 실험에 사용한 세포의 경우 beam-off time이 1분-4분으로 주어졌을 때 충분히 회복하지 못하는 것으로 생각할 수 있다.

4.3.2. 정상세포와 암세포의 방사선 민감도 차이

본 연구에서 사용한 정상 간뇌 세포(rat normal diencephalon cells)는 $\alpha = -0.11443$, $\beta = -0.03605$ 이며 high β 값을 갖는다. 즉, α/β ratio=3.17420으로 low α/β ratio 특성을 갖는다. Low α/β ratio 특성을 갖는 세포는 조사선량에 따른 생존 곡선의 초기 저선량 영역에서 shoulder가 크며 고선량으로 갈수록 더 민감하게 반응(late response)한다. Shoulder가 크기 때문에 간헐적 선량 전달 패턴을 적용하였을 때 생존율의 이득이 더 크다.[20] 실제로 본 연구의 실험 결과 Fig 4.4-4.6으로부터 정상 간뇌 세포가 신경교종세포와 비교했을 때, 단일조사 대비 생존율의 증가분이 더 크게 나타나는 경향을 보이는 것을 확인하였다. 본 연구에서 신경교종세포(rat gliosarcoma cells)는 $\alpha = -0.17882$, $\beta = -0.00529$ 이며 low β 값을 갖는다. 즉, α/β ratio=33.80340으로 high α/β ratio 특성을 갖는다. High α/β ratio 특성의 세포는 조사선량에 따른 생존 곡선의 shoulder가 작고 저선량 영역에서 방사선 민감성이 큰 early responding tissue로 볼 수 있다. Shoulder가 작아 생존율 곡선이 거의 직선의 형태를 띠기 때문에 실제 실험 결과를 보면 간헐적 선량 전달 패턴을 적용했을 때, 단일조사와 비교해 생존율의 이득이 정상세포에 비해 크지 않았다. Fig 4.8은 정상 간뇌 세포와 신경교종세포의 단일조사선량에 따른 생존 곡선을 나타낸 그래프이다.

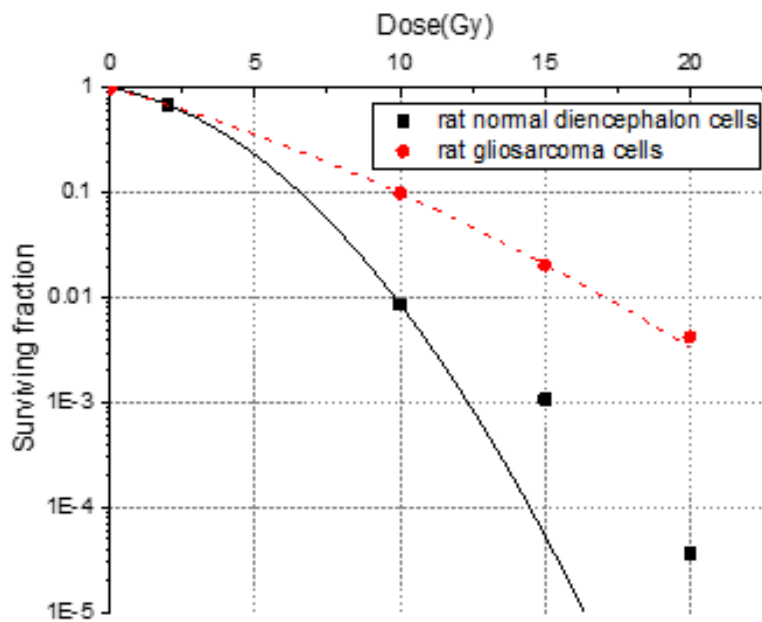


Fig 4.8 정상 간뇌 세포와 신경교종세포의 조사선량에 따른 생존 곡선 그래프이다. 정상 간뇌 세포는 low α/β ratio, 신경교종세포는 high α/β ratio 특성을 갖는다.

4.4. 간헐적 선량 전달 패턴 간 생존율 차이

통상분할조사는 하루 간격으로 약 2 Gy의 방사선을 수 회 분할하여 조사한다. 이 때 분할 조사는 1회 방사선 조사 후 다음날 방사선을 조사하기까지 세포가 충분히 회복되었다고 본다.[5] 본 연구는 간헐적 선량 전달 패턴 적용 시 beam-off time을 1분, 2분 그리고 4분으로 하였는데, 이는 통상분할조사와 같이 세포가 beam-off time동안 회복하는 시간을 준 것으로 볼 수 있다. 본 실험 결과에서 단일조사보다 간헐적 선량 전달 패턴에서 생존율이 증가했음을 확인하였다. 결과적으로 하루 보다 짧은 분 단위의 휴지 간격이 존재해도 세포의 회복에 영향을 줄 수 있다고 확인된 것이다.

간헐적 선량 전달 패턴으로 적용한 균일, 감소, 증가 패턴 간 생존율 변화를 분석하기 위해 beam-off time동안 세포가 충분히 회복을 한다는 가정 하에 선량에 따른 세포의 생존 곡선을 나타내보았다.(Fig 4.10 - 4.15) 간헐적 선량 전달 패턴으로 X선을 조사하였을 때, beam-off time 동안 세포가 충분히 회복과정을 거친다고 가정하면 10, 15, 20 Gy의 총 조사선량 조건에서 비 균일 패턴(증가, 감소 패턴)간의 최종 생존율 값은 같고, 균일 패턴은 그보다 더 높은 생존율 값을 얻을 수 있다.

4.4.1. 균일 패턴 vs. 비 균일 패턴

먼저 기존의 균일 간헐 조사에 해당하는 균일 패턴과 본 연구에서 도입한 비 균일 패턴(증가, 감소 패턴)간의 생존율을 비교해보았다. 간헐적 선량 전달 패턴으로 X선을 조사하였을 때, beam-off time 동안 세포가 충분히 회복과정을 거친다고 가정하면 비 균일 패턴간의 최종 생존율 값은 같고, 균일 패턴은 그보다 더 높은 생존율 값을 얻을 수 있다. 그러나 본 연구의 실험 결과를 보면 총 조사선량이나 beam-off time에 따른 균일 패턴과 비 균일 패턴의 생존율 차이 간에 유의미한 차이가 없었고, 특정한 경향을 찾을 수 없었다. Fig 4.1 - 4.3을 보면 세 간헐적 선량 전달 패턴으로 X선을 조사하였을 때 생존율 간 유의미한 차이를 보이지 않았고 결과 값 간에 특정한 경향 역시 없었다.

이론적으로는 간헐적 조사 간 beam-off time 동안 세포가 충분히 회복을 한 후, 기존 단일조사에 의한 생존 곡선의 기울기를 따라 생존율이 변화한다고 본다. 그러나 본 연구의 실험에서는 beam-off time이 1분, 2분 그리고 4분이었다. 이는 세포의 half time of sublethal damage repair가 보통 수 분-수 시간 범위라는 것을 고려하면 beam-off time 동안 회복하지 못한 세포들이 다음 방사선 조사 시 영향을 주었을 것으로 생각할 수 있다.[21]

4.4.2. 증가 패턴 vs. 감소 패턴

본 연구에서 도입한 비 균일 패턴(증가, 감소 패턴)간의 각 조사 조건에 따른 생존율을 비교해보았다. 통상분할조사의 원리에 따르면 beam-off time동안 세포가 충분히 회복과정을 거친다고 가정했을 때, 비 균일 패턴간의 최종 생존율 값은 같다. 본 연구의 실험 결과를 보면 두 간헐적 선량 전달 패턴에 따른 최종 생존율에 유의미한 차이가 없었고, 총 조사 선량 혹은 beam-off time에 따른 특정한 경향성 역시 찾을 수 없었다.

증가 패턴과 감소 패턴에 따른 생존율 변화에 유의미한 차이를 보이지 않아 총 조사선량 3.97 Gy와 4.86 Gy에 대해 추가 실험을 수행하였다. 선량 크기가 다른 두 partial fractions의 조사 순서가 달라졌을 때 세포 생존율에 어떤 변화를 보이는지 확인해보았다. 추가 실험 조건은 총 조사선량 10 Gy에서 첫 번째와 다섯 번째 선량 크기인 0.2 Gy와 3.77 Gy를 조합하여 총 선량 3.97 Gy를 만들었고, 두 번째와 다섯 번째 선량 크기인 1.09 Gy와 3.77 Gy를 조합하여 총 선량 4.86 Gy를 만들었다.

3.77 Gy와 4.86 Gy 모두 낮은 선량을 먼저 조사하는 경우(0.2-3.77 Gy, 1.09-3.77 Gy)와 높은 선량을 먼저 조사하는 경우(3.77-0.2 Gy, 3.77-1.09 Gy)에서 생존율의 차이를 보이지 않았다. 또한 3.77 Gy와 4.86 Gy에 대해 각각 1.98 Gy와 2.43 Gy의 동일한 선량으로 beam-off time 2분을 적용하여 2회 조사(1.98-1.98 Gy, 2.43-2.43 Gy)하였다. 그러나 역시 선량의 크기를 달리하여 간헐적으로 조사하였을 때와 비교해보니 생존율에 유의미한 차이가 없었다. 결과적으로 총 조사선량이 작아지고, partial fractions간 선량의 크기 차이가 커져도 증가 패턴과 감소 패턴에 의한 생존율 간에는 유의미한 차이를 보이지 않는다는 것이 확인되었다. 균일 패턴과 비 균일 패턴을 비교해도 역시 생존율 간에 유의미한 차이가 없었다.(Fig 4.9)

선행 연구[9, 22]에서 small partial fraction(S)과 large partial fraction(L)의 조사 순서가 방사선의 세포 위해에 영향을 주는지를 다루었고, L-S sequence가 S-L sequence보다 생존율이 더 컸다. 그 이유는

S-L sequence에서 낮은 선량(0.5 Gy이하)을 먼저 조사하게 되면 초기 세포의 회복 기작이 일어나지 않을 수 있다. 즉, 방사선에 대한 세포의 민감도가 오히려 더 커지는 저선량 방사선 과민감성 현상(Hyper-radio-sensitivity, HRS)이 발생할 수 있다. 0.5 Gy이하의 낮은 선량을 조사한 후 beam-off time을 거쳐 0.5 Gy 이상의 방사선을 조사했을 때야 비로소 뒤늦게 세포의 회복 기작이 작용(Increased radio-resistance(IRR) related repair)하게 되어 결과적으로 S-L sequence가 생존율이 더 낮다.

그러나 선행연구에서는 통상분할조사의 하루 조사선량 수준인 2 Gy를 총 조사선량으로 적용하였고, 선량률의 영향을 무시하여 논지를 전개한 한계점이 있다. 본 연구는 방사선 수술에서 적용할 수 있는 고선량 영역에서 실험을 수행하였다. 그리고 각 조사 단계마다 선량률을 점차 증가 혹은 감소시켜 선량률의 영향을 무시할 수 없기 때문에 저선량 영역에서 보인 S-L sequence와 L-S sequence에 따른 생존율 차이가 보이지 않았다.

IMRT에서 적용하는 triangle shaped dose pattern과 V-shaped dose pattern간에 생존율 차이를 보이는 원인에 대해 다룬 선행연구가 있다.[23] 이 선행연구에 따르면 세포의 살상 효과를 세 가지로 나눈다. 첫째, 단일 방사선 조사로부터 치사 손상(lethal damage)을 야기하는 것이다. 둘째, 새로 발생하는 아치사 손상(sublethal damage)이 이전의 방사선 조사로 인해 존재해있던 아치사 손상과 반응하여 치사 손상이 되는 것이다. 셋째, 현재 시점의 방사선 조사로 인해 생긴 아치사 손상이 다음의 방사선 조사에 의해 생길 아치사 손상과 반응하여, 다음 방사선 조사 시점에서 치사 손상이 되는 것이다.

해당 이론에 따르면 선량 전달 패턴의 첫 번째 partial fraction은 세 가지 세포 살상 효과 중 두 번째 효과(type-II cell kill)의 영향이 없다. 한편 마지막 partial fraction은 type-III cell kill의 영향이 없다. 따라서 처음과 끝 partial fractions의 세포 살상효과는 전체 선량 중 세포에 미치는 영향이 미비하다. 그러므로 triangle shaped dose pattern은 시작과

끝의 partial fractions에 선량 비중을 최소화하고 세포 살상 효과가 큰 중앙에 선량 비중을 최대화하여 결과적으로 세포 생존율을 낮아지게 한다. 반면 V-shaped dose pattern은 세포 살상 효과가 미비한 시작과 끝의 partial fractions에 선량 비중을 최대화하고 세포 살상 효과가 큰 중앙에 선량 비중을 최소화하여 결과적으로 세포 생존율을 높아지게 한다. 본 연구에서 적용한 증가 패턴과 감소 패턴은 전체 선량 분포에서 처음과 끝의 partial fractions가 차지하는 비중이 동일하다. 따라서 해당 이론으로 증가 패턴과 감소 패턴에 따른 세포 생존율에 차이가 없는 본 실험 결과를 설명할 수 있다.

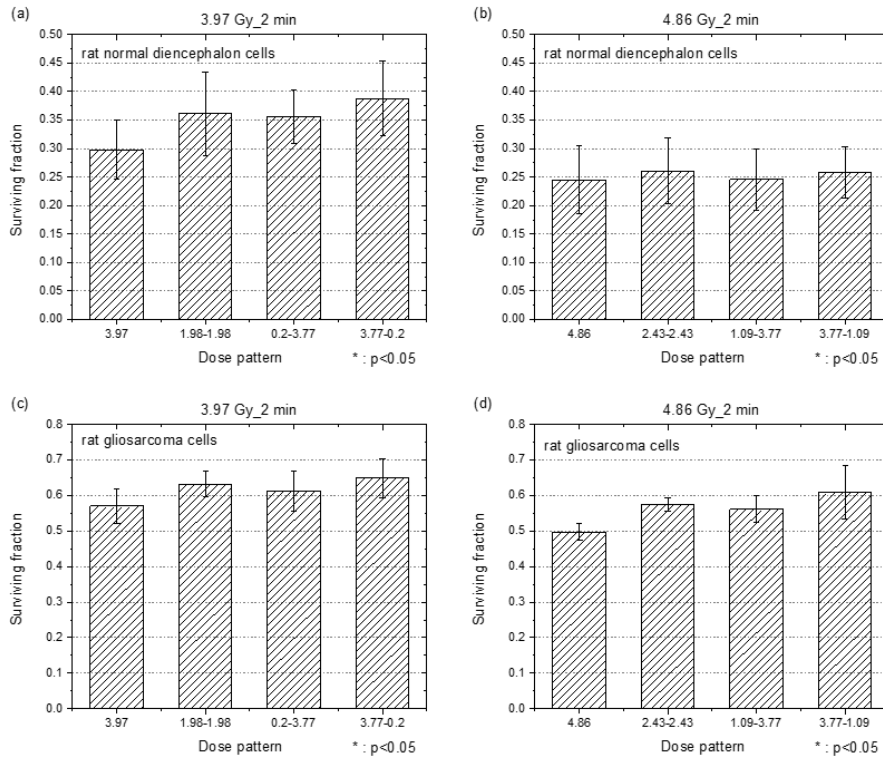


Fig 4.9 총 조사선량 3.97 Gy(a, c), 4.86 Gy(b, d)에 대해 단일조사와 선량 크기가 다른 두 partial fractions의 조사 순서가 달라졌을 때 (a, b) 정상 간뇌 세포, (c, d) 신경교종세포의 생존율을 나타낸 그래프이다. 모든 간헐 조사에서 단일조사 보다 생존율이 높았지만, 조사 순서에 따른 생존율 간 유의미한 차이는 없었다. 간헐적 조사에서 beam-off time은 2분으로 하였다.

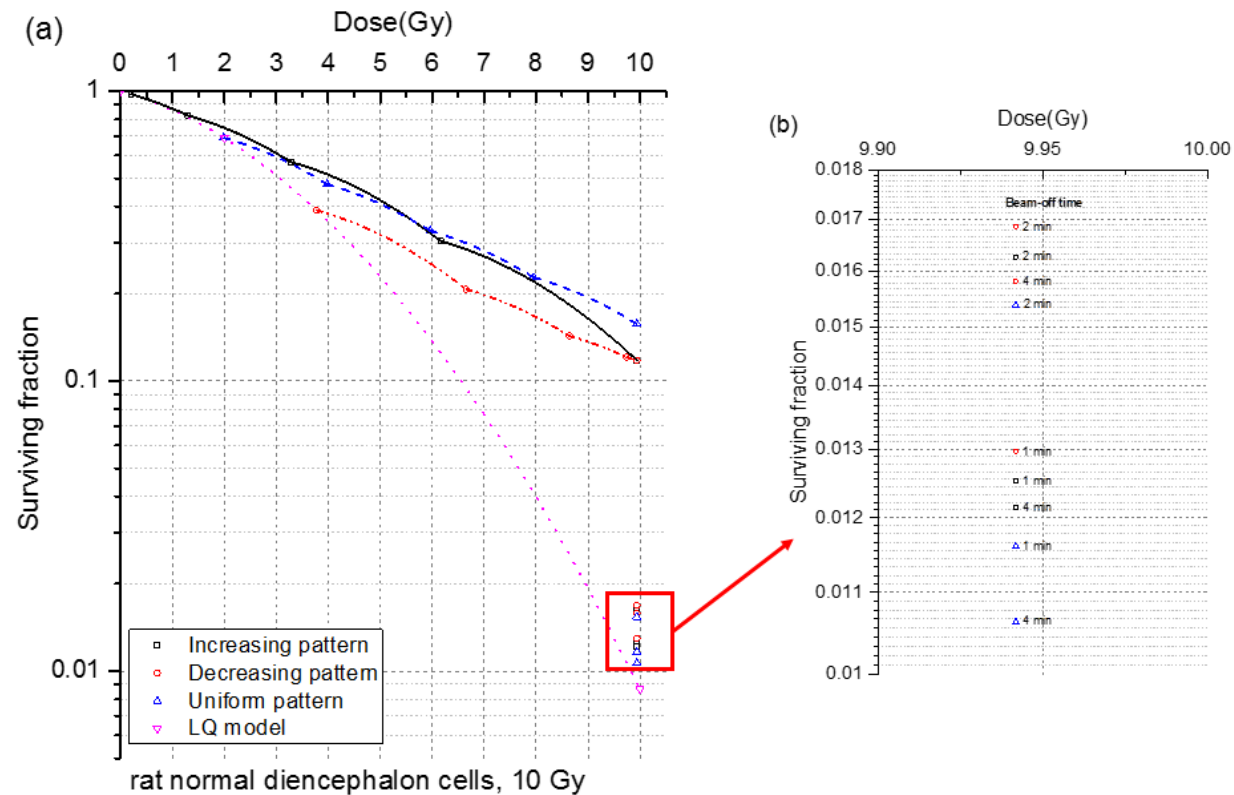


Fig 4.10 (a) 총 선량 10 Gy에 대해 beam-off time 동안 세포가 충분히 회복되었다고 가정하였을 때, 각 간헐적 선량 전달 패턴에서 선량에 따른 정상 간뇌 세포의 생존율 변화를 나타낸 그래프이다. (b)는 실제 실험으로 얻은 생존율 값의 분포를 확대하여 나타내었다.

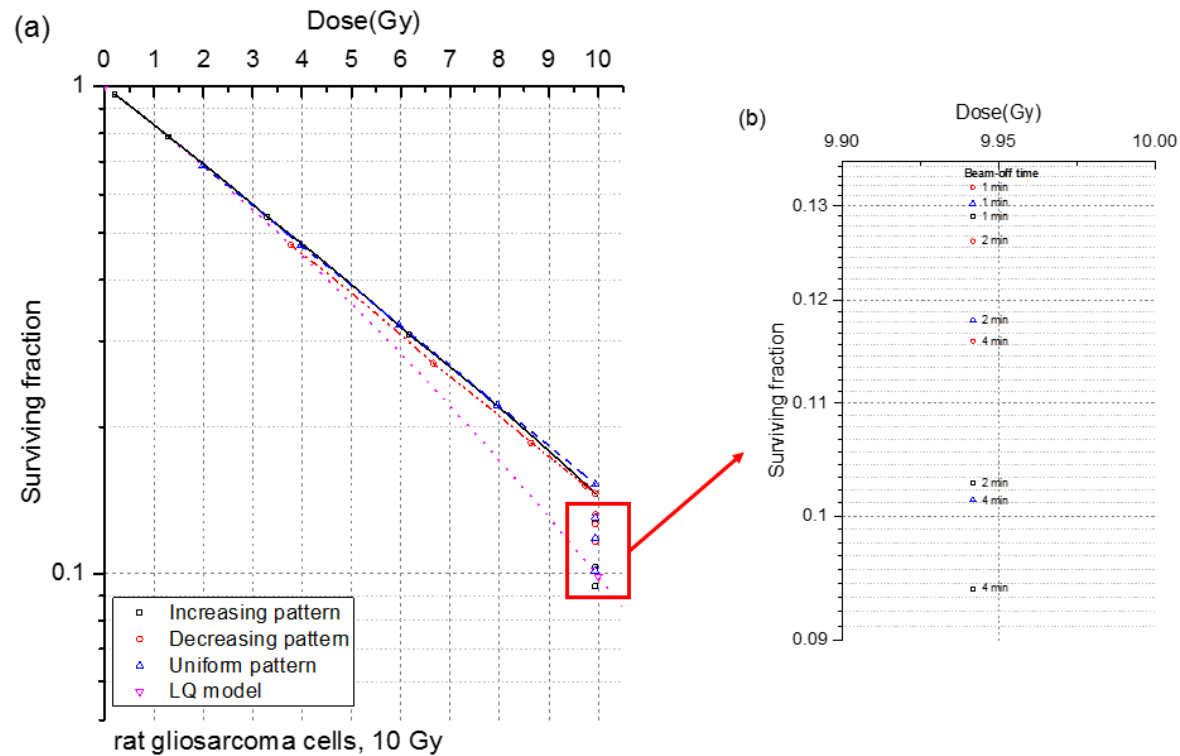
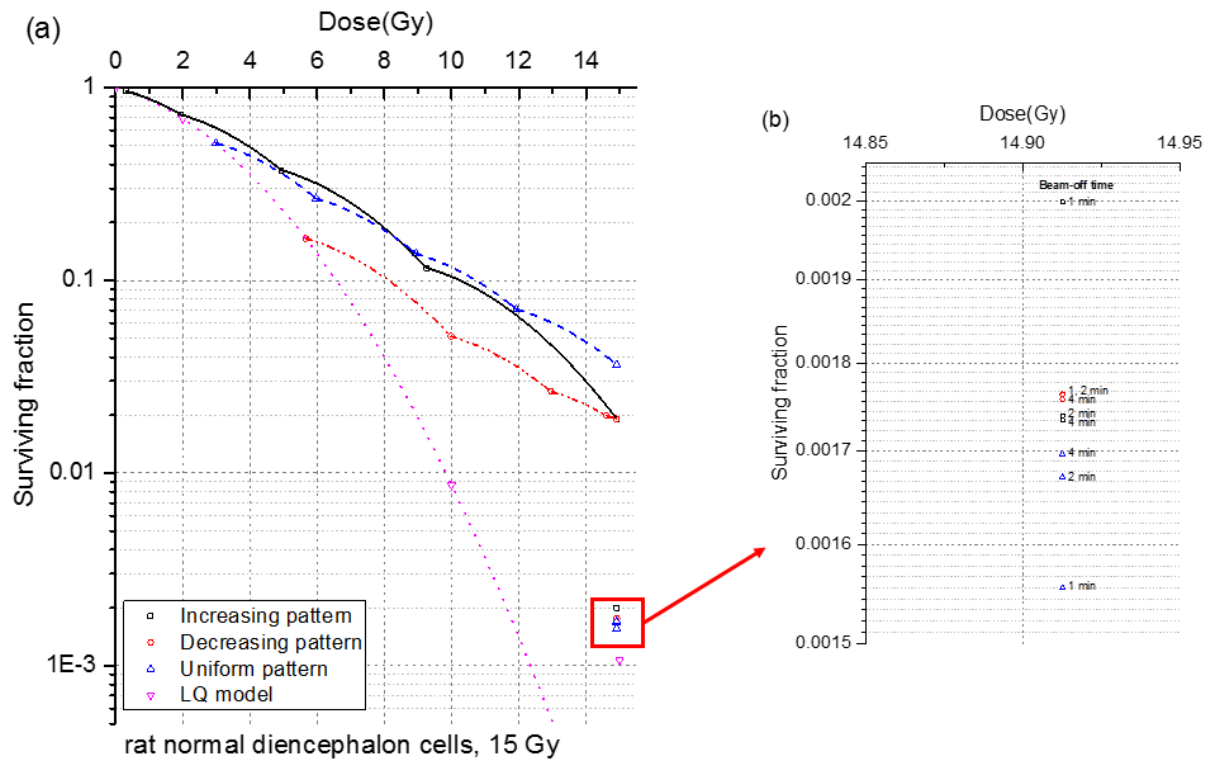


Fig 4.11 (a) 총 선량 10 Gy에 대해 beam-off time동안 세포가 충분히 회복되었다고 가정하였을 때, 각 간헐적 선량 전달 패턴에서 선량에 따른 신경교종세포의 생존율 변화를 나타낸 그래프이다. (b)는 실제 실험으로 얻은 생존율 값의 분포를 확대하여 나타내었다.



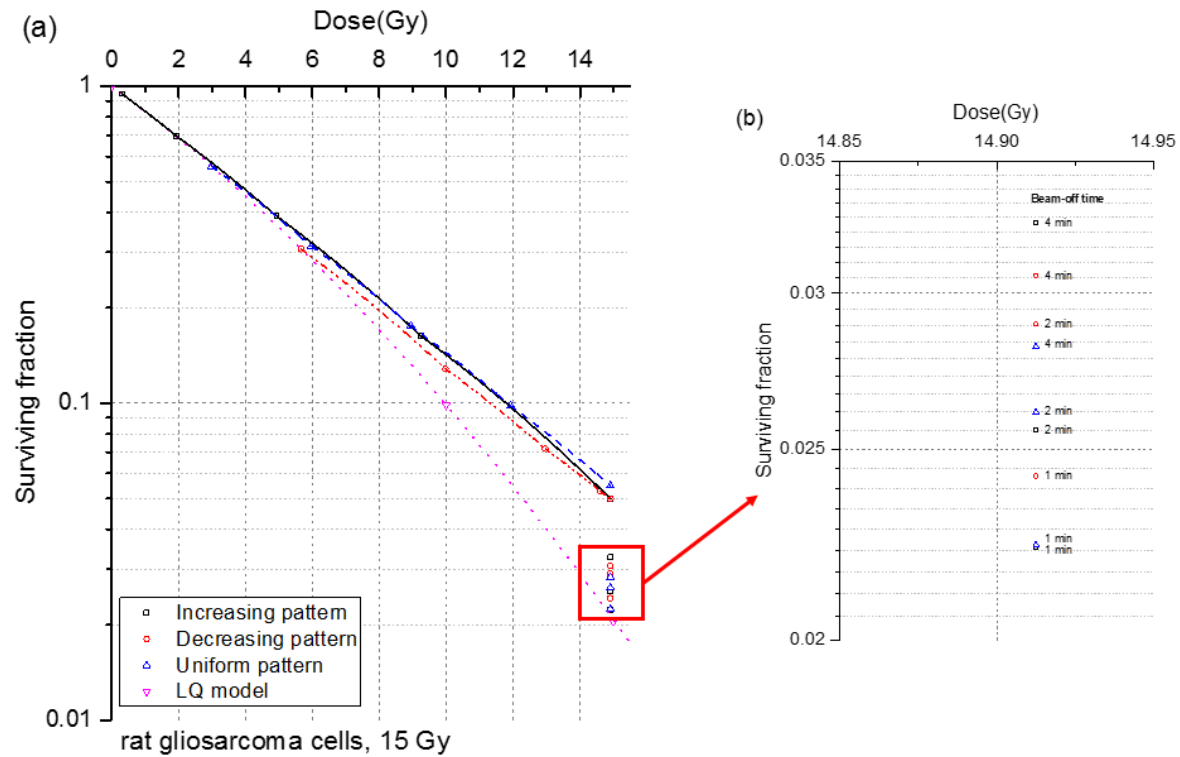


Fig 4.13 (a) 총 선량 15 Gy에 대해 beam-off time동안 세포가 충분히 회복되었다고 가정하였을 때, 각 간헐적 선량 전달 패턴에서 선량에 따른 신경교종세포의 생존율 변화를 나타낸 그래프이다. (b)는 실제 실험으로 얻은 생존율 값의 분포를 확대하여 나타내었다.

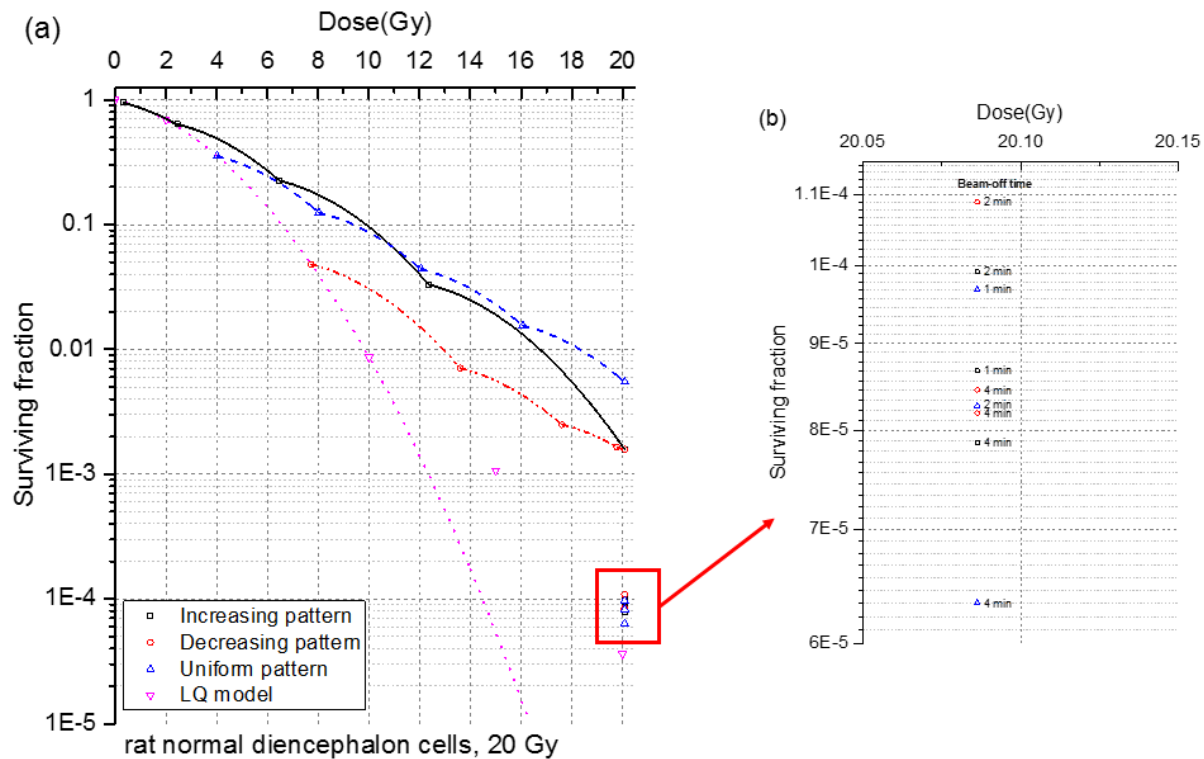


Fig 4.14 (a) 총 선량 20 Gy에 대해 beam-off time 동안 세포가 충분히 회복되었다고 가정하였을 때, 각 간헐적 선량 전달 패턴에서 선량에 따른 정상 간뇌 세포의 생존율 변화를 나타낸 그래프이다. (b)는 실제 실험으로 얻은 생존율 값의 분포를 확대하여 나타내었다.

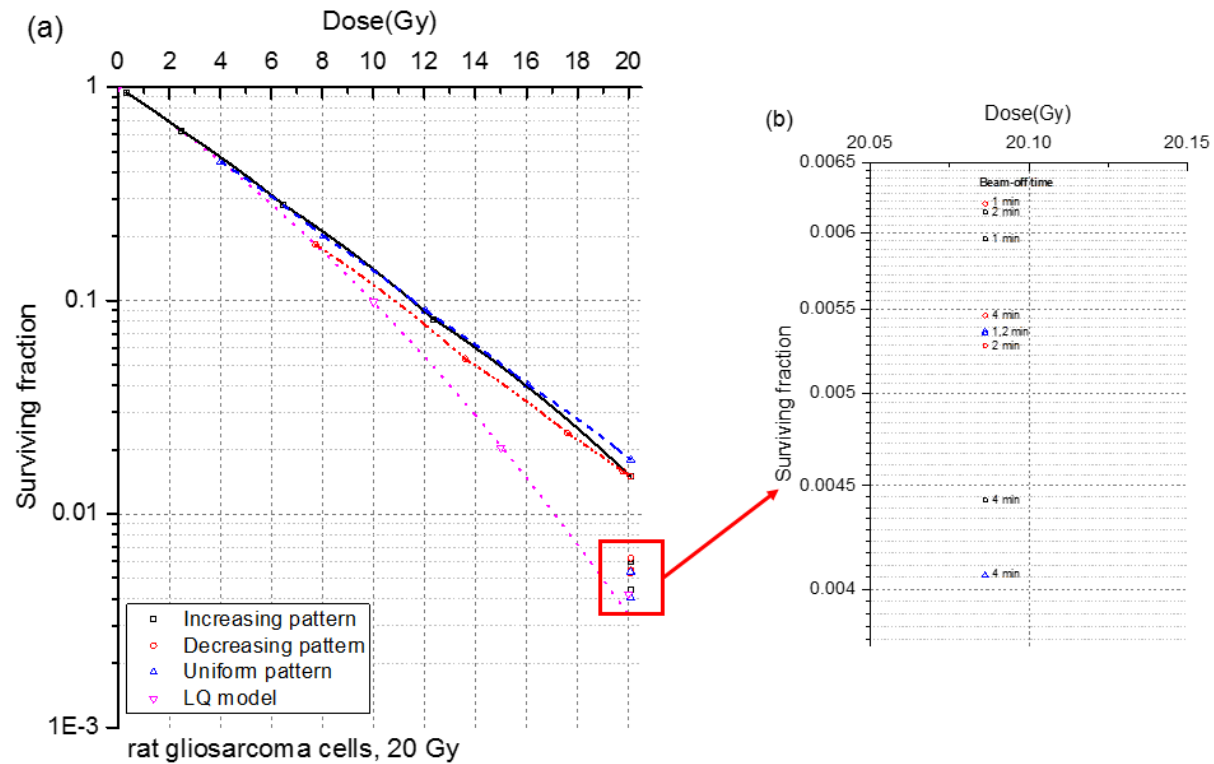


Fig 4.15 (a) 총 선량 20 Gy에 대해 beam-off time동안 세포가 충분히 회복되었다고 가정하였을 때, 각 간헐적 선량 전달 패턴에서 선량에 따른 신경교종세포의 생존율 변화를 나타낸 그래프이다. (b)는 실제 실험으로 얻은 생존율 값의 분포를 확대하여 나타내었다.

제 5 장 결 론

본 연구에서는 총 조사선량이 동일할 때, 단일조사 보다 통상분할조사의 세포 생존율이 높은 이론적 근거가 분 단위의 beam-off time이 존재하는 간헐적 조사에서도 적용되는지 확인하였다. 동일한 총 조사선량에 대해 선량의 크기를 균일하게 나눠 조사하는 패턴(균일 패턴), 선량의 크기가 점차 증가(증가 패턴) 혹은 감소하는 패턴(감소 패턴)으로 조사했을 때 세포의 생존율이 달라지는지 확인하였다.

고선량 X선을 5회로 나누어 간헐적으로 조사할 때 선량 전달 패턴에 따른 세포 영향을 확인하기 위한 in vitro 실험을 계획하여 수행하였다. 5번의 간헐적 조사에서 방사선 조사 간 beam-off time은 1분, 2분 그리고 4분으로 하였다. 각 선량 전달 패턴에 대해 정상 간뇌 세포(rat normal diencephalon cells)와 신경교종 세포(rat gliosarcoma cells)의 생존율을 확인하였다. 마지막으로 정상세포 보호와 암세포 사멸이라는 방사선 치료 목적에 근거하여 간헐적 선량 전달 패턴으로부터 기대할 수 있는 치료 이득에 대해 검토해보았다.

총 조사선량 10, 15, 20 Gy에 대해 단일조사와 간헐적 선량 전달 패턴인 균일, 증가, 감소 패턴을 적용하였을 때 정상 간뇌 세포와 신경교종세포의 생존율을 확인하였다. 정상 간뇌 세포는 간헐적 선량 전달 패턴으로 X선을 조사했을 때 단일조사와 비교해 23 - 201%, 신경 교종 세포는 3 - 59% 더 생존율이 높았다. 그러나 세 간헐적 선량 전달 패턴의 생존율 간에 유의미한 차이는 없었고, 총 조사선량이나 beam-off time에 따른 특정한 경향을 보이지 않았다.

단일조사 시 세포의 생존율을 1로 표준화했을 때 각 간헐적 선량 전달 패턴에 의한 표준화된 생존율로부터 치료 이득을 정의하였다. 모든 간헐적 선량 전달 패턴에서 치료 이득이 1보다 컸으며, 즉 단일조사보다 간헐적 선량 전달 패턴을 적용하였을 때 치료 이득이 더 크다는 것을 의미

한다. 모든 조건 가운데 기존의 균일 간헐 조사와 비교했을 때 치료 이득이 가장 큰 조건은 총 조사선량 20 Gy와 beam-off time 2분에 대한 감소 패턴이었다.

본 연구의 결과는 방사선 치료 방식의 최적화를 위해 표적이 되는 대상의 체적을 결정하는데 활용할 수 있다. 예를 들어 정상세포를 최대한 보호하는 보존적 치료를 하고자한다면 정상세포의 피폭을 최대한 줄일 수 있는 판단을 해야 한다. 실질적으로 선량이 전달되는 임상 표적 체적을 설정할 때, 본 연구 결과에서 치료 이득이 큰 조사 조건을 선택하여 종양 주변 정상 조직의 피폭을 최소화 할 수 있다. 반대로 암세포의 확실한 사멸을 목표로 치료를 하고자 한다면, 암세포 사멸 효과를 극대화시킬 수 있는 공격적 치료를 택할 수 있다. 즉, 본 연구 결과에서 치료 이득이 작은 조사 조건을 선택할 수 있다. 의사의 이러한 판단 과정에서 본 연구의 결과가 판단의 근거로 활용될 수 있다.

참 고 문 헌

- [1] S. H. Levitt, J. A. Purdy, C. A. Perez, and P. Poortmans, Technical basis of radiation therapy, Springer, pp. 335–362, 2012.
- [2] S. H. Benedict, P. S. Lin, R. D. Zwicker, S. R. Khandelwal, W. C. Broaddus, and R. K. Schmidt-Ullrich, Stereotactic radiosurgery: Relative biological effect of continuous vs. intermittent radiation exposures, Radiation oncology investigations, Vol. 2, pp. 219–223, 1995.
- [3] S. H. Benedict, P. S. Lin, R. D. Zwicker, D. T. Huang, and R. K. A. Schmidt-ullrich, The biological effectiveness of intermittent irradiation as a function of overall treatment time: Development of correction factors for linac-based stereotactic radiotherapy, Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., Vol. 37, No. 4, pp. 765–769, 1997.
- [4] J. J. Kim, and I. F. Tannock, Repopulation of cancer cells during therapy: an important cause of treatment failure, Nat. Rev. Cancer., Vol. 5, No. 7, pp. 516–525, 2005.
- [5] E. L. Alpen, Radiation biophysics, Academic press, 1998.
- [6] J. Z. Wang, X. A. Li, W. D. D’Souza, and R. D. Stewart, Impact of prolonged fraction delivery times on tumor control: a note of caution for intensity-modulated radiation therapy (IMRT), Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., Vol. 57, No. 2, pp. 543–552, 2003.

- [7] N. G Burnet, S. J. Thomas, K. E Burton, and S. J Jefferies, Defining the tumour and target volumes for radiotherapy, *Cancer imaging*, Vol. 4, No. 2, pp. 153–161, 2004.
- [8] M. Beasley, D. Driver, and H. J. Dobbs, Complications of radiotherapy: improving the therapeutic index, *Cancer imaging*, Vol. 5. No. 2, pp. 78–84, 2005.
- [9] P. S. Lin, and A. Wu, Not all 2 Gray radiation prescriptions are equivalent: Cytotoxic effect depends on delivery sequences of partial fractionated doses, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, Vol. 63, No. 2, pp. 536–544, 2005.
- [10] J. F. Fowler, J. S. Welsh, and S. P. Howard, Loss of biological effect in prolonged fraction delivery, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, Vol. 59, No. 1, pp. 242–249, 2004.
- [11] H. Ogino, Y. Shibamoto, C. Sugie, and M. Ito, Biological effects of intermittent radiation in cultured tumor cells: influence of fraction number and dose per fraction, *J. Radiat. Res.*, Vol. 46, No. 4, pp. 401–406, 2005.
- [12] J. M. Bewes, N. Suchowerska, L. Cartwright, M. A. Ebert, and D. R. McKenzie, Optimization of temporal dose modulation: Comparison of theory and experiment, *Med. Phys.*, Vol. 39, No. 6, pp. 3181–3188, 2012.
- [13] M. B. Altman, M. A. Stinauer, D. Javier, B. D. Smith, L. C.

Herman, M. L. Pytynia, B. Aydogan, C. A. Pelizzari, S. J. Chmura, and J. C. Roeske, Validation of temporal optimization effects for a single fraction of radiation in vitro, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, Vol. 75, No. 4, pp. 1240–1246, 2009.

[14] P. J. Keall, M. Chang, S. Beneict, H. Thames, S. S. Vedam, and P. S. Lin, Investigating the temporal effects of respiratory-gated and intensity-modulated radiotherapy treatment delivery on in vitro survival: an experimental and theoretical study, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, Vol. 71, No. 5, pp. 1547–1552, 2008.

[15] N. Suchowerska, M. A. Ebert, D. R. Mckenzie, and M. Jackson, A review of in vitro experimental evidence for the effect of spatial and temporal modulation of radiation dose on response, *Acta. Oncol.*, Vol. 49, No. 8, pp. 1344–1353, 2010.

[16] J. D. Schmitt, G.W. Warren, and I. Z. Wang, Potential increase in biological effectiveness from field timing optimization for stereotactic body radiation therapy, *Med. Phys.*, Vol. 39, No. 6, pp. 2956–2963, 2012.

[17] E. J. Hall, and A. J. Giaccia, *Radiobiology for the radiologist*, Wolters Kluewr, 2012.

[18] Y. Shibamoto, M. Ito, C. Sugie, H. Ogino, and M. Hara, Recovery from sublethal damage during intermittent exposures in cultured tumor cells: implications for dose modification in radiosurgery and IMRT, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, Vol. 59, No. 5, pp.

1484-1490, 2004.

[19] L. Jiang, X. P. Xiong, C. S. Hu, Z. L. Ou, G. P. Zhu, and H. M. Ying, In vitro and in vivo studies on radiobiological effects of prolonged fraction delivery time in A549 cells, *J. Radiat. Res.*, Vol. 54, No. 2, pp. 230-234, 2013.

[20] L. G. Marcu, Altered fractionation in radiotherapy: from radiobiological rationale to therapeutic gain, *Cancer. Treat. Rev.*, Vol. 36, No. 8, pp. 606-614, 2010.

[21] H. Paganetti, Changes in tumor cell response due to prolonged dose delivery times in fractionated radiation therapy, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, Vol. 63, No. 3, pp. 892-900, 2005.

[22] M. J. Murphy, P. S. Lin, and C. Ozhasoqlu, Intra-fraction dose delivery timing during stereotactic radiotherapy can influence the radiobiological effect, *Med. Phys.*, Vol. 34, No. 2, pp. 481-484, 2007.

[23] M. B. Altman, S. J. Chmura, J.O. Deasy, and J. C. Roeske, Optimization of the temporal pattern of radiation: an IMRT based study, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, Vol. 66, No. 3, pp. 898-905, 2006.

Abstract

A Study on the Effect of Dose Delivery Patterns on Cell Survival in Intermittent X-ray Exposures

Kim, Hye-jin

Department of Energy Systems Engineering

The Graduate School

Seoul National University

Radiation therapy or surgery pursues killing tumor cells while sparing normal cells from the radiation exposure. In daily fractionated radiation therapy, the radiation dose is delivered in 2 Gy per day on weekdays for 5-7 weeks. There are time intervals between radiation exposures that are usually a day and during the intervals, sufficient recovery of cells from sublethal damage can occur. As a result, radiation therapy can minimize normal cell damage.

It is a theoretical basis that normal and tumor cells better survived at daily fractionated irradiation than single exposure in radiation therapy. There are time intervals per minute and high doses(10, 15, 20 Gy) are delivered in intermittent radiation exposures. In this study,

we investigated whether the theoretical basis of daily fractionated irradiation would be applied to intermittent radiation exposures.

When a high dose X-ray was delivered in intermittent exposures over 5 times, the beam-off time between five fractional dose exposures was set at 1, 2, and 4 min. Clonogenic cell surviving fractions for intermittent dose delivery patterns were observed with rat normal diencephalon cells and rat gliosarcoma cells by in vitro experiments. Uniform, increasing, and decreasing dose patterns were the types of the intermittent dose delivery patterns. Based on the purpose of normal cell protection and tumor cell killing, we proposed the concept of therapeutic gain from intermittent dose delivery patterns.

keywords : Intermittent exposure, Fractionated irradiation, Dose delivery patterns, Therapeutic gain

Student Number : 2015-21314